

PTO 22 DEC 2004  
РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ  
(РОСПАТЕНТ)



ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ  
ПРОМЫШЛЕННОЙ СОБСТВЕННОСТИ

Берзжковская наб., 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-5, 123995  
Телефон 240 60 15. Телекс 114818 ПДЧ. Факс 243 33 37

REC'D 04 NOV 2003

WIPO

PCT

Наш № 20/12-554

«26» сентября 2003 г.

## СПРАВКА

Федеральный институт промышленной собственности (далее – Институт) настоящим удостоверяет, что приложенные материалы являются точным воспроизведением первоначального описания, формулы, реферата и чертежей (если имеются) заявки № 2002120366 на выдачу патента на изобретение, поданной в Институт в августе месяце 01 дня 2002 года (01.08.2002).

Название изобретения:

Новые производные имидазолия и фармацевтические композиции на их основе

Заявитель:

БиоДием ЛИМИТЕД (AU)

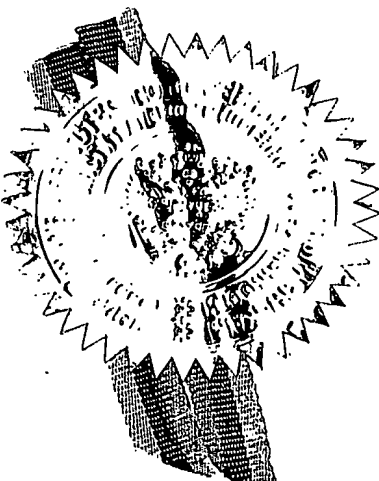
Действительные авторы:

САПРОНОВ Николай Сергеевич (RU)  
ГАВРОВСКАЯ Людмила Константиновна (RU)  
ПИОТРОВСКИЙ Левон Борисович (RU)

AV / 03 / 972

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Заведующий отделом 20

А.Л.Журавлев

Best Available Copy

200120366

МПК<sup>7</sup> C07D 233/00  
A61K 31/33, 31/41  
A61P 1/00, 9/00,  
11/00; 17/00,  
19/00, 29/00,  
37/00, 41/00

## **Новые производные имидазолия и фармацевтические композиции на их основе**

Изобретение относится к новым производным имидазолия и к фармацевтическим композициям, содержащим эти производные в качестве активного ингредиента. Изобретение также касается способа получения группы новых соединений, проявляющих противовоспалительную, ранозаживляющую и репаративную активности, и способов их применения. Изобретение может быть использовано для изготовления разнообразных многокомпонентных и комбинированных лекарственных форм и косметических средств.

Повреждение органов или тканей у человека или животного сопровождается воспалением. Воспаление - сложный процесс, связанный с действием "медиаторов воспаления": гистамина, серотонина, брадикинина, простагландинов и других биологически активных веществ. Оно возникает в связи с действием эндогенного или экзогенного повреждающего агента. В результате воспалительного процесса может произойти нарушение функции органа, ухудшение общего состояния организма.

В лечебной практике используются как нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), так и гормоны - кортикостероиды. Механизм противовоспалительного действия кортикостероидов связан с уменьшением проницаемости капилляров и образования воспалительного выпота, а также с фагоцитарной активностью лейкоцитов. При применении кортикостероидов наблюдаются побочные эффекты, выражающиеся в задержке

натрия, воды в организме, образовании отеков, повышении артериального давления, понижении сопротивляемости к инфекциям, изъязвлениях слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, замедлении регенерации, склонности к тромбообразованию и ожирению, появлению эндокринных, нервных, психических нарушений. При длительном введении кортикостероидов представляется опасным угнетение выделения естественных гормонов надпочечниками.

Противовоспалительная активность нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) связана с их угнетающим влиянием на активность ферментов, участвующих в синтезе простагландинов (простагландин-синтетаза), серотонина (5-окситриптофан-декарбоксилаза), гистамина (гистамин-декарбоксилазы), и на высвобождение "медиаторов воспаления". Однако, при применении НПВС возникают следующие побочные эффекты: раздражение слизистой оболочки желудка, аллергические реакции, нарушение функции печени, почек.

При повреждении кожного покрова помимо воспаления возникают осложнения разной степени тяжести: длительная эритема, дерматиты, гиперпигментация, высыпания, вызванные различными возбудителями (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, различные виды рода *Candida*, *Herpes simplex* и некоторые грамотрицательные бактерии), которые приводят к гипертрофическим рубцам и длительному лечению [Sriprachya-Anunt S., Fitzpatrick R.E., Goldman M.P., Smith S.R. Infections complicating pulsed carbon dioxide laser resurfacing for photoaged facial skin.//Dermatologic Surgery, 1997, V. 23, N. 7, P. 527-535].

Для заживления кожных ран в качестве стимуляторов процесса регенерации тканей, применяют различные фармакологические средства - протеолитические ферменты, синтетические анаболические гормоны, тканевые и

белковые препараты, антисептические средства, мед и его продукты, фитопрепараты, различные масла, адсорбенты [Машковский М.Д. Препараты, стимулирующие метаболические процессы /Лекарственные средства.-1998, Т. 2, С. 168-192].

В пластической реконструктивной хирургии, а также в дерматологической практике для лечения рубцов, косметических дефектов кожи лица широко используются новые технологии: «laser skin resurfacing», блефаропластика, дермабразия, химический пилинг и др.[3]. В послеоперационный период наряду с антибиотиками, противовирусными препаратами, кортикостероидами, витаминами (А, С, Е), используют средства, усиливающие репарацию и регенерацию тканей [Г. Бертрам, Катцунг, Дерматологическая фармакология. /Базисная и клиническая фармакология: в 2-х т./ Пер.с англ.-М.-СПб.:Бином-Невский Диалект, 1998.т. 2, стр. 552-571].

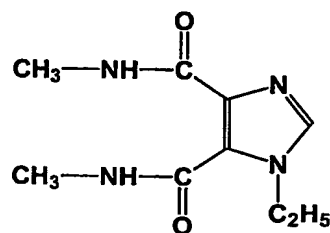
Известен в качестве репаративного средства и повсеместно применяется в медицинской практике репарат «Солкосерил», производимый в Швейцарии фирмой «Солко» в виде раствора, геля, мази, [Краснов М. М., Каспаров А.А., Юдина Ю.В. Опыт применения солкосерила в лечении заболеваний роговицы //Вестн. Офтальмол, 1982, №4, С. 64-67]. Препарат содержит депротеинизированный гемодиализат из крови телят. Из-за возникшей в последние годы опасности заражения вирусами различной этиологии через кровь крупного рогатого скота, выпуск органопрепаратов, в том числе и препарата «Солкосерил», приостановлен. Экспериментальное изучение ранозаживляющего действия геля «Солкосерил» показало, что заживление ран часто осуществляется вторичным натяжением.

Для заживления ран (порезов, ожогов, обморожений, пролежней, ссадин и т.п.) в настоящее время используют бальзам «Спасатель». «Спасатель» выпускает украинская фирма АО «Эффект». В состав бальзама входят: облепиховое масло,

нафталан, пчелиный воск, эфирные масла различных растений и витамины. Экспериментальные исследования показали, что заживление ран протекает вторичным натяжением с образованием рубцов. Данный состав не обладает каким-либо побочным эффектом, однако, у детей и взрослых с повышенной чувствительностью способен вызвать аллергическую реакцию. Поэтому при назначении «Спасателя» больным требуется осторожность и внимание.

Известный препарат этимизол [бис(N-метиламид) 1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты] [М.Д.Машковский, Лекарственные средства, Медицина, 1987, С. 130-131] используется как антиаллергическое и противовоспалительное средство при артритах, полиартритах воспалительного характера, а также при некоторых формах бронхиальной астмы.

По своей структуре этимизол [бис(N-метиламид) 1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты] наиболее близок к соединениям, составляющим предмет данного изобретения.



*Машковский  
г. 1 стр 153*

Однако применение препарата вызывает нежелательные побочные эффекты, связанные с его действием на центральную нервную систему. В частности, этимизол не рекомендуется назначать больным с двигательным и психическим возбуждением. Не известно использование этимизола для лечения кожных ран.

В биологических условиях нейтральный имидазольный цикл обеспечивает проникновение этимизола через гемато-энцефалический барьер. Этой спо-

способностью объясняется действие [бис(N-метиламид) 1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты] на центральную нервную систему.

Так как практическая медицина испытывает потребность в эффективных и дешевых противовоспалительных препаратах, авторами изобретения были проведены работы по синтезу новых соединений на основе этимизола и исследование их противовоспалительной, ранозаживляющей и репаративной активности.

В результате исследований было разработано настоящее изобретение, целью которого является получение соединений, не оказывающих действия на центральную нервную систему и не имеющих побочных эффектов. При проведении исследований было выявлено, что ряд новых производных имидазолия удовлетворяют вышеуказанным целям.

Таким образом, настоящее изобретение относится преимущественно к любому из таких производных имидазолия, а также к фармацевтическим композициям, содержащим эти производные в качестве активного ингредиента. Соединения настоящего изобретения являются новыми соединениями, полученными авторами настоящей заявки, и как будет показано ниже, они представляют собой соли N-замещенные 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолия. Нейтральный в биологических условиях имидазольный цикл был превращен в заряженный имидазолиевый цикл. Подобные заряженные соединения не способны проникать через гемато-энцефалический барьер и не способны действовать на центральную нервную систему.

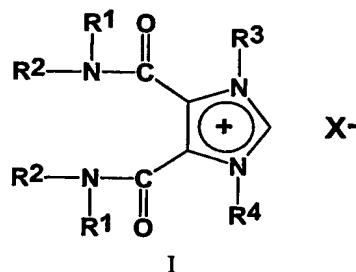
В соответствии с настоящим изобретением могут быть использованы любые соли вышеуказанных соединений, при условии, что они являются фармакологически приемлемыми.

Соединения, составляющие предмет настоящего изобретения, обладают противовоспалительной, ранозаживляющей и репаративной активностями и

способны ускорять процессы заживления при повреждении различных тканей и органов. Противовоспалительное действие соединений связано с их угнетающим влиянием на синтез и выделение "медиаторов воспаления".

Помимо этого, вышеуказанные соединения являются в высокой степени безопасным лекарственным средством, так как их токсичность невысока. Соединения настоящего изобретения могут быть использованы в качестве лекарственных средств как при наружном применении, так и при применении внутрь. Полученные авторами новые соединения были апробированы как средства для лечения воспаления в эксперименте на различных моделях воспаления.

Поставленная задача достигается тем, что, согласно изобретения, новые производные имидазолия имеют следующую формулу (1):



в которой  $R^1$  и  $R^2$  могут быть одинаковыми или разными и каждый отобран из группы: водород, алкильный радикал, линейный или разветвленный, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, необязательно замещенный аминогруппой, нитрогруппой, карбоксигруппой, карбоксамидгруппой или сульфамидной группой;

$R^3$  и  $R^4$  могут быть одинаковыми или разными, и каждый может быть линейным или разветвленным алкильным радикалом, содержащим от 1 до 6 атомов углерода;

$X^-$  представляет собой любой фармацевтически приемлемый анион неорганической или органической кислоты, отобранный из группы: хлор, бром,

иод, сульфат, нитрат, перхлорат, бензолсульфонат, метилсульфонат, п-толуолсульфонат, формиат, ацетат, фумарат, малеинат, малонат, цитрат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксибензоат, нафталин-8-сульфонат.

В соединениях вышеуказанной формулы (1) предпочтительно, если  $R^1$  и  $R^2$  различны, причем если  $R^1$  является водородом, то  $R^2$  - метильная группа;  $R^3$  и  $R^4$  одинаковы или различны, и каждый независимо является метильным или этильным радикалом;

анион, представленный  $X^-$ , не имеет каких-либо конкретных ограничений и является анионом органической кислоты выбранным из группы: бензолсульфонат, метилсульфонат, п-толуолсульфонат, формиат, ацетат, фумарат, малеинат, малонат, цитрат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксибензоат, нафталин-8-сульфонат. При этом предпочтительным является анион бензосульфокислоты.

В предпочтительных соединениях вышеуказанной формулы (1)  $R^1$  и  $R^2$  различны, если  $R^1$  -метильная группа, то  $R^2$  -водород;

$R^3$  и  $R^4$  одинаковые или разные, и каждый может быть алкильным радикалом с 1-6 атомами углерода, предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода, более предпочтительно  $R^3$  - метильный радикал,  $R^4$  - этильный радикал;

анион, представленный  $X^-$ , не имеет каких-либо конкретных ограничений и является анионом органической кислоты, выбранным из группы: бензолсульфонат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксибензоат.

В ряде соединений вышеуказанной формулы (1)  $R^1$  и  $R^2$  различны. если  $R^1$  -водород, то  $R^2$  -алкильная группа с 1-6 атомами углерода;

$R^3$  и  $R^4$  одинаковые или разные, и каждый может быть алкильным радикалом с 1-6 атомами углерода, предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода, более предпочтительно  $R^3$  - метильный радикал,  $R^4$  - этильный радикал;



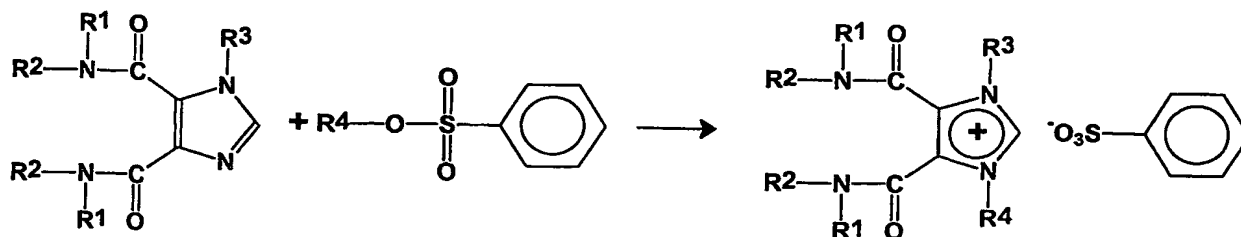
анион, представленный  $X^-$ , не имеет каких-либо конкретных ограничений и является анионом неорганической кислоты, выбранным из группы: хлор, бром, иод.

Ниже приводится список предпочтительных соединений настоящего изобретения:

1,3-диметил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат,  
 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат,  
 1,3-диэтил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат,  
 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензоат,  
 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2-гидроксibenзоат,  
 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2,4-дигидрокси-бензоат,  
 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия хлорид.

Все вышеописанные виды соединений могут быть химически синтезированы разными способами с использованием известных соединений. Авторами изобретения разработан простой и доступный синтез предпочтительных соединений настоящего изобретения.

Изобретение относится также к способу получения соединений формулы (I), заключающемуся в том, что на первой стадии бис(N-замещенный амид) 1-алкилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты подвергают реакции алкилирования с алкиловым эфиром бензолсульфокислоты для получения соединений формул (II, III, IV):



(II) 1,3-диметил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфоната, где  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=R^4=CH_3$ ,  $X^- = C_6H_5-SO_3^-$ ;

(III) 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфоната, где  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=C_2H_5$ ,  $X^- = C_6H_5-SO_3^-$ ;

(IV) 1,3-диэтил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфоната, где  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=R^4=C_2H_5$ ,  $X^- = C_6H_5-SO_3^-$ .

Полученные соединения формул (II, III, IV) выделяют либо подвергают реакциям превращения для получения других продуктов формулы (I), а именно солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия, например:

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия хлорида,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензоата,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2-гидроксibenзоата,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2,4-дигидрокси-бензоата.

Как показали исследования авторов, фармацевтически приемлемые соли N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия с неорганическими или органическими кислотами обладают важными фармакологическими свойствами, а именно противовоспалительной, ранозаживляющей и репаративной активностями, и способны ускорять процессы заживления при повреждении различных тканей и органов. При этом наличие в соединениях заряженного имидазолиевого цикла обеспечивает отсутствие их действия на центральную нервную систему. Эти свойства позволяют рекомендовать продукты формулы (I) для использования в терапии.

Продукты, описанные выше, можно использовать в качестве лекарственных средств, причем соединения формулы (I) могут быть в виде солей с фармацевтически приемлемыми минеральными или органическими кислотами.

Таким образом, изобретение относится к использованию продуктов формулы (I), определенным выше, которые могут быть в виде солей с

фармацевтически приемлемыми минеральными или органическими кислотами, в качестве лекарственных средств.

В частности, в качестве лекарственных средств могут быть использованы описанные ниже в примерах следующие продукты формулы (1): 1,3-диметил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат, 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат, 1,3-диэтил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат, 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия хлорид, 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензоат, 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия салицилат, 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2,4-дигидроксибензоат; а также их соли с другими фармацевтически приемлемыми минеральными или органическими кислотами.

Лекарственные средства, предмет изобретения, могут быть использованы для симптоматического лечения воспалительных процессов, сопровождающих многие заболевания.

В связи с их ранозаживляющей активностью, лекарственные средства согласно изобретению могут использоваться включая, но не ограничиваясь этим, для лечения хирургических, травматических, трофических и других ран, ожогов, диабетических язв, варикозных язв, трофических язв, изъязвлений слизистой ротовой полости (афты) и, возможно, роговичных язв.

Лекарственные средства согласно изобретению обладают репаративной активностью, и могут быть использованы для лечения переломов костей и повреждений различных тканей: слизистых, мышечных, тканей сердца и печени. В частности, лекарственные средства могут использоваться включая, но не ограничиваясь этим, для лечения язвенной болезни желудка и кишечника, гепатитов, инфаркта миокарда и его последствий.

Изобретение относится также к фармацевтическим композициям, содержащим в качестве активного вещества по меньшей мере одно из соединений, определенных выше, а также фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или разбавитель.

Эти композиции могут быть твердыми или жидкими и могут иметь все фармацевтические формы, используемые обычно в медицине, как, например, обычные таблетки или драже, желатиновые капсулы, гранулы, свечи, препараты для инъекций, мази, кремы, гели и препараты в форме аэрозолей; их готовят обычными методами. Активное вещество может быть включено вместе с наполнителями, применяемыми обычно в этих фармацевтических составах, например, тальк, гуммиарабик, лактоза, крахмал, стеарат магния, масло какао, водные инертные основы лекарственного препарата, гликоли, различные смачивающие средства, консерванты.

Лекарственные средства, предмет изобретения, могут быть использованы также и в ветеринарии. Они могут применяться для лечения как домашних животных (например, собак и кошек), так и других млекопитающих.

Изобретение иллюстрируется следующими фотографиями.

На фиг.1 Морфологическая картина заживления кожных полнослойных ран.

Рис. 1А - контрольная группа, самозаживление без лечения - 15 суток;

Рис. 1Б - опытная группа, лечение 10% мазью соединения (III) -15 суток;

Рис. 1В - опытная группа, лечение бальзамом «Спасатель» - 15 суток;

Рис. 1Г - опытная группа, лечение гелем «Солкосерил»- 15 суток.

На Фиг.2 Морфологическая картина заживления криогенного повреждения слизистой ротовой полости.

Рис. 2 А – контроль, криогенное повреждение - 7 суток;

Рис. 2 Б - опытная группа, лечение Соед. (III), доза 50 мг/кг - 7 суток;

Рис. 2 В - опытная группа, лечение Соед. (III), доза 50 мг/кг - 14 суток.

На Фиг. 3 Морфологическая картина заживления криогенной язвы толстого кишечника.

Рис. 3 А - контроль, криогенная язва - 7 суток;

Рис. 3 Б - опытная группа, лечение Соед. (III) 20 мг/кг - 7 суток;

Рис. 3 В - опытная группа, лечение Соед. (III) 50 мг/кг - 7 суток;

Рис. 3 Г - опытная группа, лечение метилурацилом 180 мг/кг-7 суток.

На фиг. 4 Морфологическая картина регенерации костной ткани в зоне дефекта.

Рис. 4 А - контроль, самозаживление без лечения - 1 месяц;

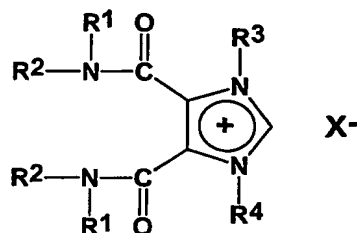
Рис. 4 Б - опытная группа, лечение Соед. (III) 50 мг/кг - 3 месяца;

Рис. 4 В – контроль, самозаживление без лечения -3 месяца;

Рис. 4 Г - опытная группа, лечение Соед.(III) 100 мг/кг-3 месяца.

Возможность осуществления изобретений подтверждается нижеприведенными сведениями.

Преимущественно изобретение относится к группе новых производных имидазолия с общей формулой:



в которой  $R^1$  и  $R^2$  могут быть одинаковыми или разными и каждый отобран из группы: водород, алкильный радикал, линейный или разветвленный, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, необязательно замещенный аминогруппой,

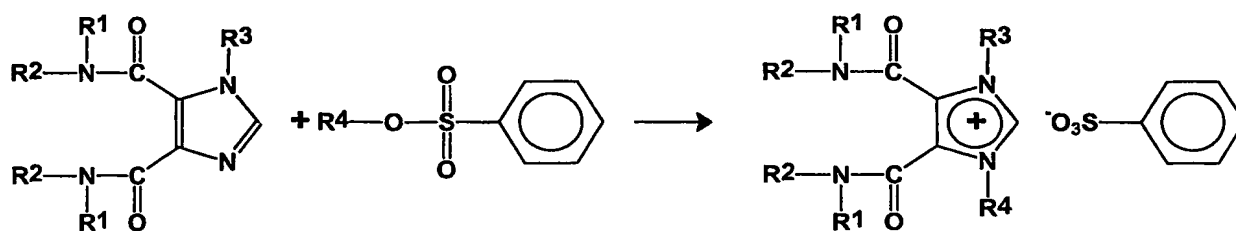
нитрогруппой, карбоксигруппой, карбоксамидгруппой или сульфамидной группой,

$R^3$  и  $R^4$  могут быть одинаковыми или разными, и каждый может быть линейным или разветвленным алкильным радикалом, содержащим от 1 до 6 атомов углерода,

$X^-$  представляет собой любой фармацевтически приемлемый анион неорганической или органической кислоты, отобранный из группы: хлор, бром, иод, сульфат, нитрат, перхлорат, бензолсульфонат, метилсульфонат, п-толуолсульфонат, формиат, ацетат, фумарат, малеинат, малонат, цитрат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксибензоат, нафталин-8-сульфонат.

Возможность получения всех соединений группы подтверждается реакционными схемами. Примеры получения характерных соединений настоящего изобретения более подробно описаны ниже.

Соединения формулы (I) могут быть синтезированы в две стадии. На первой стадии производят алкилирование производного имидазола путем нагревания N-замещенного бисамида 1-алкилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты с алкиловыми эфирами бензолсульфокислоты по схеме:

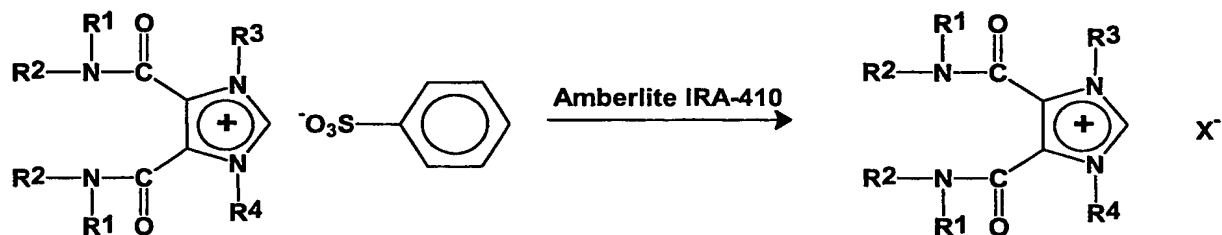


в которой  $R^1$  и  $R^2$  могут быть одинаковыми или разными и каждый отобран из группы: водород, алкильный радикал, линейный или разветвленный, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, необязательно замещенный аминогруппой, нитрогруппой, карбоксигруппой, карбоксамидгруппой или сульфамидной группой,

$R^3$  и  $R^4$  могут быть одинаковыми или разными, и каждый может быть линейным или разветвленным алкильным радикалом, содержащим от 1 до 6 атомов углерода.

В результате на первой стадии получают N-замещенные 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолия бензолсульфонаты.

На второй стадии новые соединения группы получают заменой аниона в N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолиях бензолсульфонатах на ионообменной смоле по следующей схеме:



где  $X^-$  представляет собой любой фармацевтически приемлемый анион неорганической или органической кислоты, отобранный из группы: хлор, бром, иод, сульфат, нитрат, перхлорат, бензолсульфонат, метилсульфонат, п-толуолсульфонат, формиат, ацетат, фумарат, малеинат, малонат, цитрат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксibenзоат, нафталин-8-сульфонат.

В частности, на первой стадии получают предпочтительные соединения формулы (I), где:

(II)  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=R^4=CH_3$ ,  $X=C_6H_5-SO_3^-$  (анион бензолсульфоукислоты);

(III)  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=C_2H_5$ ,  $X=C_6H_5-SO_3^-$  (анион бензолсульфоукислоты);

(IV)  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=R^4=C_2H_5$ ,  $X=C_6H_5-SO_3^-$  (анион бензолсульфоукислоты);

На второй стадии, осуществляя реакцию замены аниона в соединении формулы (III) получают предпочтительные соединения формулы (I), где:

(V)  $R^1=H$ ,  $R^2=CH_3$ ,  $R^3=CH_3$ ,  $R^4=C_2H_5$ ,  $X=Cl^-$  (анион хлорид);

(VI)  $R^1=H, R^2=CH_3, R^3=CH_3, R^4=C_2H_5, X^- = C_6H_4COO^-$  (анион бензойной кислоты);

(VII)  $R^1=H, R^2=CH_3, R^3=CH_3, R^4=C_2H_5, X^- = 2-HO-C_6H_4COO^-$  (анион салициловой кислоты);

(VIII)  $R^1=H, R^2=CH_3, R^3=CH_3, R^4=C_2H_5, X^- = 2,5-диHO-C_6H_4COO^-$  (анион дигидроксibenзойной кислоты).

Настоящее изобретение более подробно иллюстрируется нижеследующими примерами.

**Пример 1.** Синтез 1,3-диметил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (II):

1г 1-метил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазола [бис(N-метиламид) 1-метилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты] нагревают в 5 мл метилового эфира бензолсульфокислоты при 120 °С в течение 3 часов. Реакционную смесь разбавляют подходящим растворителем (безводный диэтиловый эфир, безводный ацетон) и отфильтровывают выпавший осадок. Выход 1.5 г (85.7%). Температура плавления 159-161 °С (н.бутанол-н.гептан). Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.

**Пример 2.** Синтез 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (III):

1г 1-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазола [бис(N-метиламид) 1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты] нагревают в 5 мл метилового эфира бензолсульфокислоты при 120 °С в течение 3 часов. Реакционную смесь разбавляют подходящим растворителем (безводный диэтиловый эфир, безводный ацетон) и отфильтровывают выпавший осадок. Выход 1.5 г (82.5%). Температура плавления 133-135 °С (н.бутанол-н.гептан). Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.



**Пример 3.** Синтез 1,3-диэтил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (IV):

1г 1-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазола [бис(N-метиламид) 1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты] нагревают в 5 мл этилового эфира бензолсульфокислоты при 120 °С в течение 3 часов. Реакционную смесь разбавляют подходящим растворителем (безводный диэтиловый эфир, безводный ацетон) и отфильтровывают выпавший осадок. Выход 1.4 г (74.2%). Температура плавления 108-111 °С (н.бутанол-н.гептан). Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.

**Пример 4.** Синтез 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия хлорида (V):

1г 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (III) растворяют в 20 мл дистиллированной воды и раствор пропускают через колонку с ионообменной смолой Амберлит IRA-410 (Cl<sup>-</sup>-форма, 40 мл, элюент вода). Собирают 600 мл элюента и упаривают воду в вакууме. Остаток высушивают в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> при комнатной температуре в течение 12-18 часов. Получают белый гигроскопичный порошок соединения (V). Выход 0.68 г (98 %). Температура плавления 192-194 °С. Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.

**Пример 5.** Синтез 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензоата (VI):

1г 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (III) растворяют в 20 мл дистиллированной воды и раствор пропускают через колонку с ионообменной смолой Амберлит IRA-410 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COO<sup>-</sup>-форма, 40 мл, элюент вода). Собирали 600 мл элюента и упаривали воду в вакууме. Остаток высушивают в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> при комнатной температуре в течение 12-18 часов. Получают белый гигроскопичный порошок соединения (VI). Выход 0.89 г

(97 %). Температура плавления 140 -145 °С. Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.

**Пример 6.** Синтез 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия салицилата (VII):

6г (0.016 моля) 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (III) растворяют в 200 мл дистиллированной воды и раствор пропускают через колонку с ионообменной смолой Амберлит IRA-410 (ОН-форма) и элюент собирают в 2-х литровый стакан, содержащий 3.5 г (0.024 моля) салициловой кислоты в 15 мл воды. Объем пропущенного элюента 1.5 л. Отфильтровывают нерастворившуюся салициловую кислоту и выделяют лиофильной сушкой светло-желтый гигроскопический порошок дигидрата соединения (VII). Выход 5.85 г (98 %). Температура плавления 109-110 °С. Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.

**Пример 7.** Синтез 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2,4-дигидроксibenzoат (VIII):

6 г (0.016 моля) 1-Метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензолсульфоната (III) растворяют в 200 мл дистиллированной воды и раствор пропускают через колонку с ионообменной смолой Амберлит IRA-410 (ОН-форма), элюент собирают в 2х литровый стакан, содержащий 3.85 г (0.025 моля) 2,5-дигидроксibenзойной кислоты в 15 мл воды. Объем пропущенного элюента 1.5 л. Отфильтровывают нерастворившуюся кислоту и выделяют лиофильной сушкой слегка желтый гигроскопический порошок соединения (VIII). Выход 5.76 г (97 %). Температура плавления 168-170 °С. Данные элементного анализа см. в табл.1, а данные ПМР-спектров - в табл. 2.

**Пример 8.** Получение соединений (VII) и (VIII) возможно также при пропускании раствора соединения (III) через колонку, заполненную ионообменной смолой, содержащей салициловую или 2,5-дигидроксibenзойную

кислоты по методу, аналогичному методам получения соединений (V) и (VI), описанных соответственно в примерах 4 и 5, с выделением конечных продуктов лиофильной сушкой.

Соединения, полученные в соответствии с настоящим изобретением, хорошо растворимы в воде, устойчивы и нетоксичны.

Заявленные в данном изобретении соединения обладают свойствами нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) и могут вызывать торможение эксудативной реакции за счет ингибирования активности полиферментного комплекса называемого циклооксигеназой.

Поскольку воспаление - сложный процесс, который имеет несколько стадий с вовлечением различных "медиаторов воспаления", создать единую модель воспаления невозможно. Действие солей N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолия оценивали на моделях, которые часто используются при изучении противовоспалительных свойств лекарственных средств. Активность испытуемых средств оценивали как при профилактическом введении, так и лечебном применении.

Воспаление у мышей и крыс в эксперименте вызывали различными методами. Моделями острого эксудативного воспаления служили: индукция отека лап у животных в ответ на введение конканавалина А (фирма Sigma), каррагинина (фирма Serva), брадикинина (фирма Sigma). Представленные в примерах результаты показали, что заявленные соединения предупреждают развитие острого эксудативного воспаления, вызванного различными агентами воспаления (профилактическое применение), и уменьшают развитие хронического пролиферативного воспалительного процесса (лечебный эффект) по силе сопоставимое с действием известных противовоспалительных средств.

Как описано ниже в примерах, заявляемые соединения способны снижать острую воспалительную реакцию, вызванную "агентами воспаления" различного

генеза, у животных как при однократном введении, так и в течение длительного времени, а также у адреналэктомированных животных.

При исследовании противовоспалительной активности было выявлено репаративное действие препарата на органы висцеральных систем. При этом препарат вводили перорально и парентерально. Однако, такой способ введения препарата оказывал слабое ранозаживляющее действие на раны кожного покрова, что обусловлено особенностями фармакокинетики препарата.

Ранозаживляющее действие солей N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолия изучали на крысах, моделируя асептические полнослойные кожные раны [Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А, Западнюк Б.В. //Лабораторные животные. –Киев. Вища школа, 1983, С. 248-250, 254-255]. Сравнительный анализ ранозаживляющего действия 10% мази бензолсульфоната 1-этил-3-метил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия на ланолиновой основе проводили с гелем «Солкосерил» и бальзамом «Спасатель», применяемые в качестве репаративных средств.

Статистическую обработку материала производили стандартными методами с применением t-критерия Стьюдента на компьютере по программам, разработанным в отделе нейрофармакологии ГУ НИИЭМ РАМН. Оценку заживления полнослойной раны проводили по комплексу морфологических показателей, характеризующих качество регенераторного процесса.

Заживление ран является сложным морфологическим, патофизиологическим и биохимическим процессом, на течение и исход которого существенное влияние оказывают факторы, обусловленные непосредственно повреждением ткани. В общей динамике раневого процесса четко прослеживаются три периода: 1) расплавление некротических масс и очищение от них раневого дефекта через воспаление; 2) пролиферация соединительнотканых элементов с формированием грануляционной ткани восполняющей рану; 3) фиброзирование

грануляционной ткани с образованием рубца и его эпителизацией. Для успешного заживления лечение ран должно проводиться с учетом особенностей различных фаз раневого процесса [Кузин М.И., Костюченко Б.М., Карлов В.А. Краткий обзор учения о ранах. //Раны и раневая инфекция. - М.: Медицина, 1981, С. 13-54.].

Полнослойные раны, на которых изучали процесс заживления и регенерации тканей, связаны с нарушением структуры всех трех слоев (эпидермиса, дермы, гиподермы) кожи. Репаративные процессы ткани здесь затрагивают все три слоя. Процесс заживления раны под действием бензолсульфоната 1-этил-3-метил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия протекает за счет первичного натяжения, когда наблюдается раннее и полное очищение раны, синхроннотекущие и завершающиеся к 15 суткам регенераторные процессы в системе эпителий - соединительная ткань протекают без признаков его патологической регенерации и без рубцевания соединительной ткани.

При действии лекарственных веществ на кожу такое физико-химическое свойство, как липофильность, влияет на скорость их всасывания [Scheuplein R.J. Mechanism of percutant absorbtion. //J. Investig. Dermatology, 1965, V. 45, N. 5, P. 334-345].

Как показали исследования препараты солей N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолия, обладая низкой липофильностью, плохо проникают через биологические мембраны, что способствует более длительному контакту с пораженной поверхностью и повышает эффективность их наружного применения. Эти свойства обеспечивают возможность использования соединений в составе, например, мазей.

Ранозаживляющая активность соединений, заявленных в данном изобретении, позволяет использовать их для лечения хирургических,

травматических, трофических и других ран, ожогов, диабетических язв, варикозных язв, трофических язв, изъязвлений слизистой ротовой полости (афты) и, возможно, роговичных язв.

Оценка репаративного действия препаратов традиционно проводится по заживлению кожных ран, а также на моделях регенерации печени при гепатэктомии или токсическом отравлении. Для подтверждения репаративного действия солей N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия на процессы регенерации в печени была использована частичная гепатэктомия.

Эксперименты проведены на 80 беспородных белых крысах-самцах массой 180 - 200 г. Частичную гепатэктомию производили по известной методике [G.M. Higgins and R.M. Anderson, Arch. Pathol, 1931, V.12, N.1, P. 188-202], удаляя левую боковую и центральную доли печени. Опытным группам животных внутрибрюшинно вводили Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII в эвимолярных дозах 0,1 мМ/кг и 0,2 мМ/кг. Оптимальные дозы устанавливали опытным путем. Контрольная группа получала внутрибрюшинно инъекцию физиологического раствора. Препараты вводили на следующий день после операции и затем ежедневно однократно в течение 7 дней, так как максимальный прирост массы печени у крыс наблюдается в первые 7 дней после частичной гепатэктомии [Солопаев Б.П., Регенерация нормальной и патологически измененной печени, Волго-Вят. кн.изд., Горький, 1980]. Для сравнительной оценки использовали оптимальную комбинацию применяемых при патологии печени стимуляторов процессов регенерации из группы нестероидных анаболических - рибоксина и оротата калия в дозе 0,2 мМ/кг каждого препарата [Рычнев В.Е., Фролов В.М., Стимуляторы регенерации в терапии вирусного гепатита и других заболеваний печени, Изд-во Воронеж. гос. ун-та, Воронеж, 1984].

Для количественной оценки процессов регенерации в печени использовали коэффициент полноты регенерации, который определялся по формуле:

$$K = \frac{P_1 - P_2}{P_3} \cdot 100\%, \text{ где}$$

$P_1$  - масса печени через 7 дней после частичной гепатэктомии;

$P_2$  - масса оставшейся печени после частичной гепатэктомии;

$P_3$  - масса удаленной печени.

Исходная масса печени, необходимая для вычисления массы органа, оставшейся после операции, вычислялась, исходя из массы тела животного, поскольку масса печени крыс линейно связана с массой тела.

Уравнение регрессии имеет вид:

$y = 0,036x + 2,37$ , где  $x$  - масса животного,  $y$  - масса печени.

Коэффициент линейной корреляции для оценки исследуемой величины равен 0.654 [Гайворонская В.В., Оковитый С.В., Шустов Е.Б, Смирнов А.В., Эксперим. и клин. фармакол., 2000, Т 63, №5, С. 34-36.].

Стимуляция репаративной регенерации ткани при гепатэктомии и под влиянием различных лекарственных препаратов связана с усилением синтеза нуклеиновых кислот, что проявляется в увеличении содержания РНК и ДНК в регенерируемой ткани. Количественное определение ДНК и РНК проводили в центрифужных пробирках. Наиболее информативными оказались результаты сравнительного анализа содержания ДНК у леченных животных. О состоянии ферментативного звена антиоксидантной защиты судили по активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД).

Как будет показано в примерах, в печени гепатэктомизированных животных происходит достоверное снижение активности изучаемых ферментов. Уменьшение антиоксидантной активности отражает подавление некоторых синтетических процессов в пролиферирующей печени. В большей степени эти

изменения выражены для каталазы. После проведения курсов лечения наблюдалась достоверная стабилизация каталазной активности. Эффективность терапии оценивали по изменению фермента антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы (СОД). При гепатэктомии отмечено достоверное снижение его активности в печени экспериментальных животных.

В опытных группах, в отличие от стандартной комбинации, кроме гипертрофии гепатоцитов наблюдалось расширение зон роста с появлением очаговых регенератов, расположенных в периферических зонах, и пролиферация эпителия желчных протоков, полноценность регенерации печени после частичной гепатэктомии на фоне действия изучаемых препаратов.

Морфологическое исследование печени после частичной гепатэктомии и воздействия Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII. показало, что все исследуемые препараты способствовали ускорению процессов регенерации печени после частичной гепатэктомии.

Репаративная активность является существенной характеристикой свойств солей N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил) имидазолия, в целом изложенных выше, что положено в основу терапевтического применения соединений по данному изобретению. Помимо указанного выше применения, продукты данного изобретения могут быть использованы также для лечения переломов костей и повреждений различных тканей: слизистых, мышечных, тканей сердца, печени.

В примерах продемонстрирована репаративная активность солей N-замещенных производных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия в процессах лечения инфаркта миокарда и его последствия.

Клинические испытания препарата проводили в две фазы.

1-я фаза. Оценка общего клинического эффекта курсовой терапии Соед. III в качестве средства, усиливающего процессы репарации и изучение его влияния на



насосную функцию сердца у больных ИМ (подострая стадия течения с 7 до 28 суток заболевания).

При клинической апробации Соед.ІІІ в качестве репаративного средства в подостром периоде инфаркта миокарда (ИМ) обследовано 284 больных, из них: Соед.ІІІ получали 106 человек, традиционное лечение – 178 человек.

Больные были разделены на 2 группы. 1-ю группу составили 63 больных, получавших традиционную терапию, 2-ю группу 44 больных, которым помимо традиционного лечения с 7 по 28 сутки заболевания назначался Соед.ІІ в дозе 600мг/сут. Контрольная группа состояла из 14 здоровых мужчин в возрасте от 26 до 42 лет. Существенных различий между группами больных по возрасту и основным характеристикам очага некроза не отмечали. Средний возраст больных первой группы составил 50,3 года, второй группы – 49,5 лет. Повторные ИМ были диагностированы у 20% больных 1-ой и 25% больных 2-ой группы. Локализацию очага некроза в передне-перегородочной и передне-боковой областях левого желудочка у больных 1-й группы отмечали с частотой 0,47, у больных 2-й группы – с частотой 0,38. Нижняя и нижне-боковая локализация очага некроза была выявлена у 0,53 больных 1-й и 0,62 больных 2-й группы.

Традиционная терапия, включающая тромболитики, антикоагулянты, дезагреганты, нитраты пролонгированного действия, антагонисты кальция, соответствовала клиническим проявлениям болезни и была аналогичной в обследуемых группах больных.

В течение всего периода наблюдения у больных обеих групп оценивали клинические данные, получаемые при ежедневных осмотрах, и результаты электрокардиографического исследования. На 7-е и 28-е сутки течения ИМ исследовали клинический анализ крови, содержание в плазме (сыворотке) крови билирубина, сахара, креатинина, холестерина, бета-липопротеидов, калия, натрия, определяли активность протомбинового комплекса, время рекальцификации, общий

анализ мочи. Центральную гемодинамику исследовали методом интегральной реографии тела по М.И. Тищенко с помощью кондуктометрического систоловолюмографа КСВГ-1т. Рассчитывали ударный объем (УИ) и сердечный (СИ)-индексы. Рассчитывали ударный объем (УИ) и сердечный (СИ) индексы. Показатели сократимости левого желудочка – конечный диастолический объем (КДО), фракции выброса (ФВ), степень систолического укорчения передне-заднего размера полости (% $\Delta S$ ) –исследовали методом эхографии на аппарате SSD-119 фирмы «Аloka».

2-я фаза. Расширенное изучение клинической эффективности Соед.III в качестве репаративного средства в подостром периоде ИМ в сравнении с рибоксином.

Под наблюдением в клинике госпитальной терапии 1 ЛМИ им.Павлова (больница ЛОМО) находилось 50 человек в возрасте от 34 до 65 лет 48 мужчин и 2 женщины. Все больные страдали ишемической болезнью сердца. Поводом для госпитализации был острый крупноочаговый инфаркт миокарда с выраженным болевым синдромом. ИМ наблюдался повторно у 16% больных, у 34% больных диагностирована сердечная недостаточность II ст. Из сопутствующей патологии, следует отметить гипертоническую болезнь у 30% обследованных больных, сахарный диабет –у 8%.

В комплексную терапию входил Соед.III (1-я группа – 32 больных), либо рибоксин (2-я группа – 18 больных). Препараты применяли в дозе 200 мг 3 раза в день.

Проведенные исследования показали, что Соед.III является эффективным препаратом для лечения больных инфарктом миокарда в подострой стадии течения его в комплексной терапии с традиционными методами. Препарат обладает выраженными антиоксидантными свойствами, способствует уменьшению сроков рубцевания, нормализует электролитный обмен,

положительно влияет на сократительную функцию миокарда, не вызывает побочных реакций и осложнений.

Обладающие репаративной активностью заявляемые лекарственные средства могут быть использованы для лечения истинной эрозии шейки матки, язвенной болезни желудка и кишечника, переломов костей, поражений слизистой ротовой полости и язв толстого кишечника. Фармакологические испытания заявленных соединений показали их низкую токсичность и подтвердили наличие противовоспалительной, ранозаживляющей и репаративной активности соединений. Количественные характеристики показателей приведены в примерах испытаний.

Как показано в примерах фармацевтические композиции, содержащие в качестве активного вещества по меньшей мере одно из заявляемых соединений, а также фармацевтически или ветеринарно приемлемый носитель или разбавитель, можно вводить орально, ректально, парентерально (внутривенной инъекцией) или локально, нанесением на кожу и слизистые оболочки.

Для экспериментальной проверки ранозаживляющего действия соединений, их композиции наносили на раны кожи в виде мелкодисперсного порошка, присыпки, мази, раствора.

Для перорального введения соединения настоящего изобретения могут быть использованы в любой стандартной лекарственной форме, например, в виде твердых лекарственных форм, таких как таблетки, порошки, гранулы, капсулы и т. п.; растворов и жидких лекарственных форм, таких как сиропы и эликсиры. Для парентерального (внутривенного) введения соединения настоящего изобретения могут быть использованы в форме инъектируемых водных растворов. При изготовлении таких лекарственных форм могут быть выборочно использованы стандартные наполнители, связующие вещества, водные растворители или аэрозоли. Кроме того, в фармацевтические композиции могут

быть также введены другие добавки, например, консерванты и стабилизаторы. Композиции могут содержать одну или несколько фармацевтически приемлемых подслащивающих добавок, ароматизаторов или красителей.

Доза соединения настоящего изобретения или его соли, используемая при лечении пациента, зависит от способа введения, возраста, веса тела и клинического состояния пациента, а также от типа его заболевания. Количество активного вещества, по меньшей мере одного из заявляемых соединений, может составлять от 5% до 95% фармацевтической композиции для лечебного применения.

Обычная дозировка, изменяемая в зависимости от используемого вещества, от пациента, которого лечат, от заболевания, может составлять, например, от 200 до 600 мг в день у взрослого при оральном назначении.

Настоящее изобретение иллюстрируется нижеследующими примерами испытаний, примерами композиций, которые, однако, не должны рассматриваться как некое ограничение объема изобретения.

#### **Пример испытаний 1. Исследование острой токсичности солей**

**N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия.**

Острую токсичность солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия оценивали при внутрибрюшинном введении на 200 белых мышах-самцах массой 18-20,0 г. Гибель животных учитывали через сутки после введения препарата. Общий срок наблюдения составлял 14 дней. Оценку полученных данных и расчет LD<sub>50</sub> производили по методу Кербера [Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л., 1963] (см. табл.3).

При введении токсических доз препаратов животные лежат пластом, далее перестают дышать, наблюдается остановка сердца.

Проведенные исследования показали, что по токсичности соединения рас-

положились от наименее токсичного соединения Соед. II >Соед. III >Соед. VII >Соед. VI >Соед. VIII >Соед. V >Соед. IV.

**Пример испытаний 2.** Влияние солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия на фазу острого эксудативного воспаления, вызванного введением конканавалина А (Кон А).

Мышам-самцам линии СВА массой 18-20 г за 1 час до инъекции конканавалина А вводили однократно внутрибрюшинно соли N-замещенные 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия в дозах 10 и 50 мг/кг. Животным контрольной группы аналогичным образом вводили физиологический раствор. Через 1 час мышам опытных и контрольной групп субплантарно (под подошвенный апоневроз) левой лапы инъецировали Кон А в дозе 100 мкг/20 г массы тела, в контралатеральную лапу – тот же объем физиологического раствора. Через 1 час мышей забивали и измеряли массу опытных и контрольных лап, по которой оценивали индекс реакции воспаления голеностопных суставов [Любимов Б.И. и соавт. Методические указания по оценке аллергизирующих свойств фармакологических средств. В кн.: Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ. М., 2000, С. 234-241].

Проведенные исследования показали, что у мышей максимальная отечность голеностопных суставов наступала через 1 час после введения (Кон А), а превентивное применение солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия внутрибрюшинно, в дозах 10 и 50 мг/кг (за 1 час до индукции отека), вызывало уменьшение интенсивности воспалительного процесса (см. табл.4).

**Пример испытаний 3.** Сравнение противовоспалительной активности Соед. III и Соед. VIII.

Противовоспалительную активность Соед. III и Соед. VIII сравнивали на модели острого эксудативного отека лапы мышей-самцов массой 18-22г. Графически

вычисляли  $ED_{50}$  - дозу, вызывающую уменьшение отека лапы на 50 % через 1 часа после введения Кон А. (см. табл.5).

Проведенные исследования показали, что  $ED_{50}$  для Соед. III составило 33 мг/кг, а для Соед. VIII - 52 мг/кг.

**Пример испытаний 4.** Влияние Соед. III на развитие острого эксудативного воспаления, вызванного каррагенином у интактных и адреналэктомированных животных.

Острую воспалительную реакцию у интактных и адреналэктомированных крыс-самцов массой 180-200 г вызывали введением субплантарно левой лапы 0,1 мл 1% раствора каррагенина, в контралатеральную лапу — тот же объем физиологического раствора. Выраженность воспалительной реакции оценивали через 3 часа, в случае применения каррагенина, после индукции воспаления по изменению массы опытных и контрольных лап, оценивали индекс реакции воспаления голеностопных суставов [Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W. - Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, V. III, P. 544-547]. Соед. III в дозах 50, 100 мг/кг и препарат сравнения Ибупрофен в дозе 48 мг/кг ( $ED_{50}$ ) вводили зондом в желудок три дня и за 1 час до инъекции каррагенина.

Проведенные исследования показали, что Соед. III достоверно проявляет противовоспалительное действие, как у интактных, так и у адреналэктомированных животных (см. табл.6).

**Пример испытаний 5.** Влияние Соед. III на развитие реакции воспаления, вызванной брадикинином у интактных животных.

Острое эксудативное воспаление воспроизводили введением субплантарно левой лапы 0,1 мл 0,01% раствора брадикинина у крыс-самцов массой 180-200 г. Выраженность воспалительной реакции оценивали через 30 минут при введении брадикинина, после индукции воспаления по изменению объема лапы

(онкометрически). Противовоспалительный эффект, оцениваемый по уменьшению отека, выражали в % к контролю. Исследуемые вещества вводили зондом в желудок в течение 3-х дней и непосредственно за 1 час до брадикинина. В качестве препаратов сравнения использовали: противовоспалительное средство - Бутадион - 60 мг/кг ( $ED_{50}$ ), специфическое антибрадикининовое средство - Пармидин - 50 мг/кг ( $ED_{50}$ ), перорально, которые вводили крысам в течение 3-х дней и непосредственно за 1 час перед введением агента [Сюбаев Р.Д., Машковский М.Д., Шварц Г.Я., Покрышкин В.И. //Хим.-фарм.журн., 1986, №1, С.33-39]. Под влиянием Соед.III в дозе 50 мг/кг наблюдалось достоверное уменьшение воспалительной реакции, вызванной брадикинином. Причем этот эффект был равен действию специфического антибрадикининового средства Пармидина и подобен Бутадиону (см. табл.7).

**Пример испытаний 6.** Влияние Соед.III на фазу хронического пролиферативного воспаления (гранулема).

В наших опытах был использован метод образования экспериментальных гранулем. Изучали свойство Соед.III уменьшать образование грануляционной ткани в воспалительном очаге, развивающемся на месте имплантации под кожу крысам нестерильного ватного шарика (массой 40 мг) [Swingle K.F., Shideman F.E. //J. Pharmacol. exp. Therap., 1972, V.183, N.1, P.226-234.]. Соед.III вводили крысам самцам массой 130-150г перорально в дозе 100 мг/кг в течение 6 дней до имплантации шарика и затем 6 дней в той же дозе на фоне образования гранулемы. Для сравнения применяли противовоспалительные средства Ибупрофен и Бутадион по той же схеме, что и исследуемое соединение. По истечении времени животных выводили из опыта, гранулемы вылущивали, взвешивали, определяли сырую массу грануляционной ткани. Через 24 часа после высушивания в термостате ( $t-70^{\circ}$ ), определяли сухую массу гранулемы. Далее

рассчитывали экссудативную и пролиферативную фазу гранулемы.

Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке с использованием параметрического теста-Стьюдента. В результате исследования установлено, что Соед. III, как и препараты сравнения, способно уменьшать образование грануляционной ткани в воспалительном очаге (см. табл. 8).

**Пример испытаний 7.** Применение солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия местно на раны.

Для создания модели полнослойных кожных ран под легким эфирным наркозом у экспериментальных животных ножницами с предварительно выстриженного участка спины вырезали округлый лоскут кожи площадью  $2.5 \text{ см}^2$  ( $250 \text{ мм}^2$ ). Место нанесения поражения выбирали с таким расчетом, чтобы животное не имело возможности облизывать рану. Животных содержали в отдельных клетках на обычном рационе и свободном доступе к воде. Опыты выполнены на 100 крысах массой 200-250 г по 20 животных в группе.

1 группа – контрольная (самозаживление);

2 группа – контрольная (Плацебо – ланолиновая основа);

3 группа – опытная (бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 10% мазь на ланолиновой основе);

4 группа – сравнения (“Солкосерил” гель)

5 группа – сравнения (“Спасатель” бальзам)

Лечение осуществляли через сутки после образования раны, путем нанесения 200 мг мази один раз в сутки из расчета 80 мг мази на  $\text{см}^2$  раневой поверхности (8 мг субстанции на  $\text{см}^2$ ) и далее ежедневно до полного заживления.

На модели раны контролировали процесс заживления через 5, 10, 15, 20 суток, анализируя состояния раны. Средний срок полного заживления раны с применением бензолсульфоната 1-этил-3-метил-4,5-бис(N-



метилкарбамоил)имидазолия составляет  $16,8 \pm 1,9$  суток, в то время как для “Спасателя” -  $23,5 \pm 2,2$  и для “Солкосерила” -  $24,0 \pm 2,4$  суток.

Течение раневого процесса оценивали по следующим критериям:

размеры и сроки заживления ран;

прирост массы тела животных;

показатели периферической крови (лейкоциты, лейкоцитарная формула, скорость оседания эритроцитов);

биохимические показатели сыворотки крови (общий белок и белковые фракции);

макро- и микроскопическая оценка ран.

На протяжении эксперимента у животных всех групп в определенные сроки (5, 10, 15, 20 суток от момента создания ран) измеряли площадь ран. На рану накладывали предметное стерильное стекло и маркером обрисовывали ее контур. Изображения ран сканировали, площадь вычисляли с помощью специально разработанной компьютерной программы.

Результаты повторных измерений площади раны характеризуют динамику регенераторных процессов не только эпителия, покрывающего рану, но и подлежащей грануляционной ткани. Средние величины площадей в контрольных и опытных группах сравнивали при  $P < 0.05$ . Сравнительный анализ динамики площади заживления ран показал, что в контрольный срок (15 суток) у животных, которых лечили 10% мазью бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис-(N-метилкарбамоил)-имидазолия, площадь раневой поверхности составила 0,4%. В группах сравнения это величина равнялась для Солкосерила – 10,4%, Спасателя - 11%, Плацебо – 24,1%.

На модели раны контролировали процесс заживления через 5, 10, 15, 20 суток, анализируя состояния раны. Средний срок полного заживления раны с применением бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-

имидазолия составляет  $16,8 \pm 1,9$  суток, в то время как для “Спасателя” -  $23,5 \pm 2,2$  и для “Солкосерила” -  $24,0 \pm 2,4$  суток.

Результаты представлены в таблицах 9 и 10. Наиболее выраженный ранозаживляющий эффект наблюдается при применении мази бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия.

**Изменение массы тела.** Определение массы тела проводили 1 раз в неделю до кормления животных. Результаты измерений представлены в таблице 11. Ежедневные наблюдения показали, что статистически значимый прирост массы отмечен лишь у животных, получавших бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия. Этот показатель составил к 20 дню эксперимента в опытной группе 19%, а в контрольных группах (самозаживление и Плацебо) – 10-12%. Полученные данные подтверждают позитивное действие препарата на процессы репарации и регенерации ран.

**Показатели периферической крови.** Показатели периферической крови крыс (лейкоциты, лейкоцитарная формула, СОЭ) опытных и контрольных групп изучали до образования раны, а затем на 5-е, 10-е и 15-е сутки эксперимента. Результаты этой серии опытов представлены в таблицах 12-14.

При изучении динамики гематологических показателей у крыс, леченных препаратом бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия, достоверных изменений по сравнению с исходными показателями интактных животных (до образования раны) не выявлено.

**Биохимические показатели сыворотки крови.** Общий белок сыворотки крови опытных и контрольных животных определяли биуретовым методом, белковые фракции (альбумины и глобулины:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ ) - электрофоретически до начала эксперимента, а затем на 5-е, 10-е и 15-е сутки. Из представленных данных (таблицы 15, 16, 17) видно, что во всех группах животных на 5 сутки в результате воспалительного процесса происходит уменьшение в крови альбуминов и

увеличение глобулиновой фракции. Аналогичные данные описаны в литературе при раневом воспалении. Изменения в белковом спектре отражают общие закономерности организма как ответную реакцию на повреждение целостности кожных покровов [Колб В.Г., Камышников В.С., Справочник по клинической химии, Минск, Беларусь, 1982, С. 29-43].

**Пример испытаний 8.** Морфологическая оценка этапов заживления кожных ран.

Важным показателем заживления раны является результат цитоморфологического исследования состояния грануляции и эпителизации поверхности раны [Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Музыкант Л.И. и др. Морфология раневого процесса // Раны и раневая инфекция. - М.: Медицина, 1981, С. 688-695]. Биоматериалы брали у экспериментальных животных на 5, 10 и 15 сутки исследования, что ориентировочно соответствует трем фазам заживления ран: 5 -й день заканчивается первая фаза травматического воспаления, 10-й день - фаза развития грануляционной ткани, 15 - 20-й день - формирование рубца и его эпителизация.

5 суток

Контрольная группа (самозаживление). Рана значительной протяженности, покрыта массивными пленками, представленными некротическими массами, фибрином, лейкоцитами с колониями бактерий. Очищение от пленки имеется лишь у 20% животных на отдельных участках, в остальных случаях пленка тесно связана с поверхностью раны, которая диффузно инфильтрирована лейкоцитами. Грануляционная ткань дна с явлениями созревания, беспорядочным расположением сосудов и волокон. В прилежащих к дну раны участках жировой клетчатки, мышечной ткани и в смежных с раной участках дермы-продуктивное воспаление, отек. Эпителизация на начальных этапах имеется в краях раны, имеет небольшую протяженность. Эпителиальный регенерат в виде клина, не имеет выраженных признаков дифференцировки.

Плацебо – (ланолиновая основа). Рана большой протяженности, под плотно связанной с поверхностью пленкой. Интенсивная лейкоцитарная инфильтрация поверхностных отделов дна раны сочетается с расплавлением пленки в пограничной зоне. Между грануляционной тканью дна раны и смежными участками кожи и подкожной клетчатки границы нечеткие, признаки созревания грануляционной ткани слабо выражены. У 60% животных в краях раны, на значительном протяжении, имеется эпителиальный регенерат без выраженной дифференцировки.

Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия. Рана значительной протяженности с очаговым очищением от пленки, которая имеет различную, чаще незначительную толщину. Очищение поверхности более выражено по периферии раны, где у всех животных наблюдается регенерация эпителия в виде клиновидного эпителиального пласта различной протяженности с отчетливыми признаками плоскоклеточной дифференцировки. В дне раны, созревающая грануляционная ткань с воспалительной инфильтрацией, более выраженной в поверхностных отделах, границы между дном и боковыми отделами раны с окружающими тканевыми структурами нечеткие, благодаря отеку и воспалению.

10 суток

Контрольная группа (самозаживление). Раны всех животных покрыты толстой пленкой, “коркой” из некротических масс, фибрина, лейкоцитов с колониями бактерий. Признаков очищения нет, “корка” тесно связана с дном раны. В дне - созревающая грануляционная ткань с большим количеством новообразованных сосудов с нерегулярными, беспорядочно расположенными коллагеновыми волокнами, выраженной лимфолейкоцитарной инфильтрацией. Воспалительная инфильтрация соединительнотканного регенерата имеет диффузный характер и наиболее интенсивна в поверхностных участках. В 60% случаев имеются участки

гнойного расплавления соединительнотканного регенерата. В клетчатке, прилежащей к дну и соединительной ткани продуктивное диффузное воспаление с формированием склероза. Воспаление не ограничивается дном раны и распространяется на прилежащие участки дермы. Регенерация эпителия слабо выражена, имеет начальный характер, в виде клиновидных регенератов небольшой протяженности в краях раны без выраженных проявлений дифференцировки.

Плацебо (ланолиновая основа). Очищение поверхности раны незначительное, в пленке преобладают лейкоциты. В участках без признаков очищения в дне интенсивная лейкоцитарная инфильтрация созревающей соединительной ткани. Имеются участки с тенденцией к рубцеванию соединительной ткани. Дно раны не имеет четких границ - воспаление распространяется на прилежащие отделы дермы и жировую клетчатку. Регенерация эпителия слабо выражена, имеется лишь в одном или двух краях раны у 60% животных.

Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия. Поверхность раны с нерегулярными остатками пленки (корки), представленной фибрином, эритроцитами, лизирующимися лейкоцитами. В дне раны преобладает соединительная ткань с правильной ориентацией коллагеновых волокон с умеренной клеточной инфильтрацией. Границы соединительнотканного регенерата более четкие, воспалительная инфильтрация смежных с раной участков дермы, незначительна. Регенерация эпителия имеется в ранах всех животных. Эпителиальный регенерат имеет значительную протяженность, и рост эпителия осуществляется местами в участках без полного очищения дна, с подрастанием эпителия под пленку. В регенерате имеются отчетливые признаки многослойной дифференцировки.

15 суток

Контрольная группа (самозаживление). Только у 20% животных имеется значительное очищение раны и выраженная, но незавершенная эпителизация - центральные участки раны лишены эпителия и дно представлено зрелой соединительной тканью с тенденцией к рубцеванию. Раны у 80% животных с незавершенным очищением поверхности и выраженной воспалительной инфильтрацией зрелой соединительной ткани с неравномерным рубцеванием на разных уровнях соединительнотканного регенерата. В участках выраженной воспалительной инфильтрации с наличием лейкоцитов, которые топографически соответствуют зонам без признаков полного очищения, наблюдается разрастание грануляционной ткани. Регенерация эпителия в этих случаях слабо выражена и представлена клиновидными разрастаниями эпителиального пласта лишь в краях раны. В смежных с раной участках кожи эпидермис с явлениями псевдоэпителиоматозной гиперплазии (Рис. 1А).

Плацебо - (ланолиновая основа). У 60% животных имеется полное очищение поверхности раны и ее эпителизация. Однако многослойный плоский регенерат неравномерной толщины, с незавершенной дифференцировкой. Имеются участки, в которых эпителиальный регенерат инфильтрирован лейкоцитами, отечен с выраженными признаками дистрофии. Этим участкам топографически соответствуют очаги выраженного отека, гиперемии, воспалительной инфильтрации зрелой соединительной ткани в дне раны. В жировой клетчатке - склероз, гранулемы инородных тел. Смежный с раной эпидермис с явлениями псевдоэпителиоматозной гиперплазии. У 40% животных очищение слабо выражено, эпителизация имеется только в краях раны, что сочетается с интенсивной воспалительной инфильтрацией соединительнотканного регенерата. Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия. У 60% животных полная эпителизация раны с высокой степенью дифференцировки эпителиального регенерата с образованием многослойного плоского пласта на

всем протяжении дна раны. Под многослойным плоским эпителием - зрелая соединительная ткань с правильной архитектоникой коллагеновых волокон, без признаков дезорганизации и рубцевания. Клеточная инфильтрация соединительнотканного регенерата минимальна. Определяются четкие границы между дном зажившей раны, субэпидермальной клетчаткой и смежными участками дермы. У 40% животных эпителизация незавершенная, но на значительном протяжении дна. В этих случаях имеется очаговое сохранение пленки на поверхности не эпителизированных участков. Иногда эпителиальный регенерат подрастает под пленку, отслаивает ее от раны. В таких участках имеется очаговая лимфолейкоцитарная и макрофагальная инфильтрация.

Для сравнительной оценки регенераторного процесса заживления полнослойной раны использовались следующие морфологические показатели:

- сроки и особенности очищения раны, вторичное инфицирование асептической раны;
- сроки, степень выраженности, направление и уровень дифференцировки регенерации эпителия в дне раны;
- сроки развития, топография, распространение соединительнотканного регенерата,
- наличие и выраженность воспалительной реакции в нем;
- наличие или отсутствие синхронности регенераторных процессов в системе эпителий - соединительная ткань;
- наличие или отсутствие морфологических проявлений патологической регенерации эпителия и соединительной ткани (акантоз, псевдоэпителиоматозная гиперплазия, роговые кисты, рубцевание).
- корреляция между этими процессами и способом заживления ран (первичное, вторичное натяжение) [Саркисов Д.С., Пальцын А.А., Музыкант Л.И. Морфология раневого процесса //Раны и раневая инфекция. - М.: Медицина, 1981, С.688;

Николаев А.Б., Шахтмейстер Л.Я., Шахтер А.Б. Экспериментально-клинические аспекты репаративных процессов и методы их стимулирования М., 1 ММИ им. Сеченова, 1977, С.161-167].

При изучении кожных ран у 100 животных каждой группы все перечисленные показатели характеризовались некоторой вариабельностью в пределах одной группы. Однако эти различия подчеркивали определенные тенденции, свойственные в большей или меньшей степени пяти группам изученных ран. Для контрольной группы характерно:

1. Позднее и неполное очищение дна раны от массивной пленки (некротические массы, фибрин, лейкоциты), которая обнаруживается у части животных даже на 15 сутки опыта;
2. Слабо выраженная регенерация эпителия, которая стабилизируется и ограничивается краевыми зонами раны, эпителиальный регенерат не имеет выраженной тенденции к плоскоклеточной дифференцировке;
3. Значительный масштаб роста грануляционной ткани в дне раны с неравномерным ее созревaniem и постоянством выраженной воспалительной инфильтрации.
4. Отсутствие синхронности эпителиальной и соединительнотканной пролиферации, что в совокупности с текущим воспалением определяет тенденцию к заживлению вторичным натяжением.

Близки к этим показателям на 5, 10 сутки морфологические данные, полученные с применением "Плацебо" (ланолиновая основа). Однако на 15 сутки наблюдается положительная динамика: очищение раны и ее эпителизация на значительном протяжении, созревание соединительнотканного регенерата. Тем не менее, сохраняется тенденция к воспалительным реакциям с распространением воспаления на эпителиальный пролиферат, что снижает



возможность пролиферации и дифференцировки эпителия и способствует заживлению вторичным натяжением.

Существенные различия, полученные при исследовании процессов заживления ран с использованием препарата, дополняют и подтверждают данные о положительном лечебном эффекте бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия при заживлении полнослойной раны кожи. Препарат уже на 5 сутки приводит к очаговому очищению поверхности раны от пленки и появлению эпителиального регенерата с признаками плоскоклеточной дифференцировки в краевых зонах раны. На 10 сутки наблюдается отчетливая синхронизация регенерации эпителия и соединительной ткани, тенденция к равномерному созреванию регенерата. Даже при частичном сохранении на поверхности раны пленки эпителиальный регенерат подрастает под нее. К 15 суткам процесс у большинства животных завершается заживлением раны путем первичного натяжения с плоскоклеточной дифференцировкой эпителия без признаков его патологической регенерации и без рубцевания соединительной ткани (Рис. 1Б).

По пролиферативным потенциям к бензолсульфонату 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия приближается "Солкосерил". Однако позднее отторжение пленки и очищение раны при использовании "Солкосерила" создает предпосылки к воспалительным изменениям в соединительнотканном регенерате, что коррелирует с незавершенностью эпителизации раны, возможностью лейкоцитарного расплавления эпителиального регенерата. Это является предпосылкой для заживления ран вторичным натяжением при использовании "Солкосерила" (Рис. 1Г).

"Спасатель" характеризуется менее оптимальными процессами заживления, чем "Солкосерил", и особенно бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия. Это выражается в медленнотекущем и

незавершенном, даже на 15 сутки, очищении поверхности, с которым четко коррелирует постоянство и выраженность воспалительной инфильтрации соединительнотканного регенерата, имеющего большую протяженность. В ряде случаев, в условиях текущего воспаления, нарушается синхронность регенерации в системе эпителий — соединительная ткань с неполной эпителизацией поверхности и очаговым рубцеванием соединительной ткани. Это создает предпосылки для заживления ран вторичным натяжением при использовании мази “Спасатель” (Рис. 1В).

#### **Пример испытаний 9. Лечение ран у людей.**

Лечебный эффект от применения бензолсульфоната 1-этил-3-метил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия наблюдали при нанесении его на рану в виде порошка, присыпки, растворов и мазей с концентрацией действующего начала от 5 до 95%. Во всех случаях раны заживали быстро без инфицирования и образования рубцов.

##### **1. Больной А. возраст 38 лет (резанная рана 5см)**

Поверхность раны обработана 10% мазью бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия через 12 часов после образования раны. Нанесен 1г мази под повязку. Процедуру повторяли ежедневно в течение 5 дней. Рана затянулась. Контрольный осмотр через 17 дней показал отсутствие рубцовой ткани и полное восстановление кожного покрова.

##### **2. Больной Б. возраст 78 лет (пролежни на бедре 1.0х2.0 см)**

На поверхность раны нанесен мелкодисперстный порошок бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия в количестве 0.5г под повязку. Процедуру повторяли ежедневно в течение 5 дней. Рана затянулась. Контрольный осмотр через 16 дней показал отсутствие рубцовой ткани и полное восстановление кожного покрова.

**3. Больная В. возраст 15 лет (термический ожог левой кисти 2-й степени 2.0x1.5 см).**

На поверхность раны наложили стерильную салфетку смоченную 10% стерильным раствором бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия в количестве 10 мл под повязку через 10 минут после ожога. Повязку смачивали по мере высыхания. Процедуру повторяли в течение 24 часов. Через 1 час боль на месте ожога прекратилась. На следующий день при перевязке обнаружено, что гиперемия на месте ожога значительно уменьшилась. Контрольный осмотр через 16 дней показал полное восстановление кожного покрова без рубцов.

**4. Больной Г. возраст 9 лет (ссадина на голени 3.0x0.5 см).**

На поверхность раны нанесена присыпка мелкодисперстного порошка бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия с тальком в равных пропорциях в количестве 0.5г под повязку. Процедуру повторяли ежедневно в течение 5 дней. Рана затянулась. Контрольный осмотр через 12 дней показал полное восстановление кожи.

**Пример испытаний 10. Влияние Соед. III на заживление истинной эрозии шейки матки.**

Больная И. возраст 68 лет (истинная эрозия шейки матки 1.5x1.2 см).

На предварительно осушенную поверхность раны наносили 10% мазь бензолсульфоната 1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)-имидазолия на тампоне. Процедуру повторяли ежедневно в течение двух недель. Контроль за лечением проводили кольпоскопически через 18 дней, который установил полное восстановление эпителиальной выстилки слизистой оболочки шейки матки.

**Пример испытаний 11. Влияние Соед. III на заживление поражений слизистой ротовой полости.**

С этой целью использовали модель “криогенного повреждения внутренней поверхности щеки”. Опыты выполнены на 110 крысах- самцах массой 180-200 г по 10 животных в группе. Повреждения слизистой ротовой полости у экспериментальных животных создавали наложением металлического поршня диаметром 2,5 мм, охлажденного в жидком азоте, на слизистую в течение 10 сек под эфирным наркозом. Животных содержали в отдельных клетках на обычном рационе и свободном доступе к воде. Лечение препаратом проводили через сутки после нанесения травмы и далее ежедневно до полного заживления, орошая слизистую ротовой полости. Соед. III вводили животным в дозе 50 мг/кг (объемом 2 мл водного раствора).

1 группа – интактные животные;

2 группа – криогенное повреждение (рана) 1 сутки;

3 группа - рана 3 сутки;

4 группа - рана + (Соед. III 50 мг/кг, орошая слизистую ротовой полости)  
3 сутки;

5 группа - рана 7 сутки;

6 группа - рана + (Соед. III 50 мг/кг, орошая слизистую ротовой полости) 7  
сутки;

7 группа - рана 14 сутки;

8 группа - рана +(Соед. III 50 мг/кг, орошая слизистую ротовой полости) 14 сутки.

Криогенное повреждение слизистой ротовой полости приводит к появлению раневой поверхности, которая характеризуется наличием некротической поверхности, выраженным воспалением с преобладанием лейкоцитарной инфильтрации, с выраженным расстройством кровообращения, фибриноидным некрозом соединительной ткани слизистой и распространением воспаления на мышцу, реактивным воспалением в коже. Течение раневого процесса оценивали морфологически на 1, 3, 7, 14 сутки.

На 3 сутки процессы повреждения прогрессируют, что проявляется нарастанием некротических изменений, с образованием широкой зоны некроза в дне раны, нарастанием и распространением острого воспаления с вовлечением в воспалительный процесс мышцы, кожи, слизистой за пределами раны.

На 7 сутки у половины животных происходит частичное очищение раны от некротических масс, что сочетается с ростом грануляционной ткани в дне и окружающей слизистой, обнаруживаются начальные проявления регенерации многослойного плоского эпителия с краев раны, стихают и ограничиваются проявления воспаления. На 7 сутки, и особенно на 14 сутки, тенденции к очищению поверхности ран, к развитию и созреванию соединительной ткани нарастают. Тем не менее, сохраняется очаговая активность воспаления с очаговым гнойным расплавлением созревающей грануляционной ткани в поверхностных зонах раны, особенно под некротическими массами. Эпителизация раны не выходит за рамки "начальной, осуществляется в краях раны, ни в одном случае не возникло тенденции к полной эпителизации (рис. 2А).

При сравнении опытной группы, получавшей Соед. III, с контролем уже на 3 сутки наблюдается очищение раны от некротических масс, разрастание грануляционной ткани, коррелирующее со стиханием воспаления, краевая регенерация эпителия. Еще более отчетливы, отмечаются процессы заживления раны в опытной группе на 7 сутки. В 60% случаев очищение раны было полным и сочеталось со снижением активности и распространения воспалительного процесса, созреванием грануляционной ткани, уменьшением размера раневого дефекта, более выраженными проявлениями регенерации эпителия (Рис. 2Б).

На 14 сутки эти тенденции при применении Соед. III имеют более выраженные морфологические проявления: отсутствуют раны с неполным очищением дна от некроза; отсутствуют проявления активного воспаления в дне

и окружающих тканях. Раневые поверхности значительно уменьшаются в размерах; созревание грануляционной ткани в дне и окружающей слизистой коррелирует с тенденцией к полной эпителизации поверхности раны без ее рубцевания и деформации у всех животных (Рис. 2Г).

Таким образом, сравнительный морфологический анализ свидетельствует о более выраженном, более раннем и полноценном заживлении криогенного повреждения слизистой рта крыс при применении Соед. III.

**Пример испытаний 12.** Влияние Соед. III, Соед. VII на заживление язв толстого кишечника.

С этой целью использовали модель "криогенного повреждения толстого кишечника". Криогенные поражения сигмовидной кишки вызывали наложением на серозную оболочку кишки металлического стержня (диаметром 2,5 см), охлажденного в жидком азоте в течение 10 сек под эфирным наркозом.

Опыты выполнены на 67 крысах-самцах массой 180-200 г по 8 животных в группе. Животных содержали в отдельных клетках на обычном рационе и свободном доступе к воде. Препараты вводили перорально на вторые сутки после операции и далее ежедневно до полного заживления. Соед. III, Соед. VII вводили опытным животным в дозах от 20 - 50 мг/кг. В качестве препаратов сравнения использовали комбинацию: оротат калия 50 мг/кг + рибоксин 50 мг/кг; метилурацил 180 мг/кг; салазопиридазин 2 г/кг.

- 1 группа – интактные животные 1 сут, 3 сут, 7 сут;
- 2 - контроль (криогенное повреждение - язва) 1 сут, 3 сут, 7 сут;
- 3 группа - язва + (Соед. III 20 мг/кг перорально) 3 сут, 7 сут;
- 4 группа - язва + (Соед. III 50 мг/кг перорально) 3 сут, 7 сут;
- 5 группа - язва + (Соед. VII 20 мг/кг перорально) 3 сут, 7 сут;
- 6 группа – язва + (оротат калия 50 мг/кг + рибоксин 50 мг/кг перорально) 3 сут, 7 сут;
- 7 группа - язва + (метилурацил 180 мг/кг перорально) 3 сут, 7 сут;
- 8 группа - язва + (салазопиридазин 2 г/кг перорально) 3 сут, 7 сут;

Характер заживления язвенного поражения оценивали морфологически на 1, 3, 7 сутки.

Проведенный морфологический анализ показал, что в контрольной группе животных воспроизведено поражение стенки толстой кишки с деструкцией слизистой, мышечного слоя, развитием некротического процесса с тотальным поражением слизистой, образованием фибринозно-лейкоцитарно-некротического струпа, значительным повреждением мышечного слоя, развитием острого серозного, фиброзного, лейкоцитарного воспаления в зоне повреждения, с включением брюшины. Воспалительный процесс выходит за пределы зоны повреждения в смежные участки и за пределы брюшины, в жировую клетчатку.

Процесс заживления в контрольной группе животных имеет определенную динамику:

в 1-ые сутки имеется развернутая картина повреждения. Крупные некротические поверхности без признаков отторжения некротических масс с выраженной диффузной инфильтрацией лейкоцитами субнекротической зоны. Стенка кишки тотально с резким отеком лейкоцитарной инфильтрацией. Процесс острого воспаления распространяется на брюшину, прилежащую клетчатку и смежные с зоной повреждения участки кишки. Края некротической зоны представлены слизистой окружающих участков кишки.

На 3-и сутки имеется тенденция к отторжению струпа, выраженная с различной интенсивностью у разных животных, но завершеного очищения от некроза нет. Признаки регенерации эпителия отсутствуют у большинства животных. Наряду с выраженным воспалением, в зоне повреждения имеется разрастание грануляционной ткани с начальными признаками созревания.

На 7-е сутки дно поврежденной зоны на значительном протяжении очищается от некроза, подслизистая и мышечный слой замещаются

грануляционной тканью с разной степенью и протяженностью ее созревания в сочетании с воспалительной инфильтрацией, которая сохраняется не только в зоне повреждения, но и в смежных участках кишки. Рана уменьшается в размере, имеется незавершенная регенерация слизистой без дифференцировки. Имеются случаи с очаговым сохранением струпа (Рис. 3А).

В соответствии с описанным морфогенезом выделены критерии для сравнительной оценки процессов заживления зон повреждения при лечении различными препаратами.

1. Масштаб некротических изменений, динамика очищения ран от струпа;
2. Степень выраженности и распространенность воспаления в зоне повреждения;
3. Динамика, качество и синхронность репаративных процессов - регенерация эпителия и соединительной ткани, с количественной оценкой завершения регенерации в различных группах животных.

Препараты сравнения (метилурацил, оратаг калия + рибоксин, сульфасалазин) не имеют существенных различий с контрольными группами на 3-и сутки, а на 7-е сутки характеризуются замедлением очищения дна ран от некроза, слабо выраженной регенерацией эпителия, отсутствием синхронности регенерации эпителия и соединительной ткани с сохранением воспаления (в сравнении с контролем). На 7-е сутки полное заживление имеется у 18% животных.

При сравнительной оценке опытных групп (соед. III, соед. VII) с контролем отчетливо определяются несколько принципиальных особенностей. Так, уже начиная с 3-их суток, наблюдается ускорение отторжения струпа с поверхности поврежденной зоны, снижение интенсивности воспаления в зоне повреждения и



за ее пределами. На 7 сутки отмечается ускорение роста грануляционной ткани и ее созревания в зоне деструкции. При лечении соед. II в дозе 20 мг/кг на 7-е сутки наблюдается тенденция к завершенной регенерации эпителия и слизистой, уменьшение зоны повреждения за счет синхронной регенерации с ее завершением в 100% случаев (Рис. 3Б), тогда как при использовании дозы 50 мг/кг отмечается уменьшение зоны повреждения только у 67% животных (Рис. 3В).

Все эти признаки имеются у всех животных опытных групп, но степень их выраженности и сроки варьируют в разных группах. Наиболее оптимальные проявления заживления имеются при лечении Соед. III в дозе 20 мг/кг и 50 мг/кг, менее выражены при использовании Соед. VII.

### **Пример испытаний 13**

Клинические исследования, проведенные в гастроэнтерологических клиниках в сравнении с плацебо, Вентером, Циметидином и традиционной терапией, показали, что Соед. III при пероральном применении в качестве средства монотерапии (167 пациентов) способствует заживлению язв 12-перстной кишки в 80% случаев, язва желудка - в 54% случаев, эффективность лечения повышается при сочетании с традиционной терапией. Отмечены примеры успешного применения Соед. III в случаях, устойчивых к другой терапии. Препарат не оказывает побочного и нежелательного действия, отсутствует синдром "отмены", характерный для  $H_2$ -блокаторов, гормонов. Соед. III является эффективным средством с выраженным репаративным действием в отношении эрозивно-язвенных поражений гастродуоденальной зоны.

**Пример испытаний 14.** Изучение репаративного действия солей 1,3-диалкил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия (Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII) при частичной гепатэктомии печени.

Частичную гепатэктомию производили удаляя левую боковую и центральную доли печени у 80 беспородных белых крыс-самцов массой 180 - 200 г. Опытным группам животных внутрибрюшинно вводили Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII в эвмолярных дозах 0,1 мМ/кг и 0,2 мМ/кг. Оптимальные дозы устанавливали опытным путем. Контрольная группа получала внутрибрюшинно инъекцию физиологического раствора. Препараты вводили на следующий день после операции и затем ежедневно однократно в течение 7 дней. Для сравнительной оценки эффективности соединений использовали оптимальную комбинацию хорошо известных и применяемых при патологии печени нестероидных анаболических - рибоксина и оротата калия в дозе 0,2 мМ/кг каждого препарата [Попова, Михайловская, 1981; Дунаев, Евдокимов, 1989].

Ход определения.

К навеске образца (100 мг) прибавляли 5 мл 0,3 мМ/кг раствора  $\text{HClO}_4$ . Для полноты осаждения кислотонерастворимой фракции пробирку на 15 минут помещали в лед. Затем центрифугировали при 5000 об/мин 10 мин. Осадки дважды отмывали 0,2 М  $\text{HClO}_4$ . После последнего центрифугирования стенки пробирки тщательно высушивали марлей и фильтровальной бумагой. Осадки суспензировали в 1 мл воды, предварительно растерев стеклянной палочкой, затем добавляли при комнатной  $t^\circ$  1 мл 0,6 М раствора  $\text{KOH}$ . Гидролиз проводили в течение 1 часа при  $37^\circ \text{C}$ , затем пробирки переносили в лед для остановки гидролиза. В каждую пробирку добавляли по 4 мл 0,6 М раствора, и оставляли стоять на 15 мин во льду. Центрифугировали 15 мин при 5000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для определения РНК (измеряли поглощение в ультрафиолетовом свете при 260 нм и 290 нм против контрольной пробы, содержащей 0,4 М  $\text{HClO}_4$ ). Количество РНК в мкг на 1 мл надосадочной жидкости определяли по формуле:

$$D_{270} - D_{290}$$

$$C = \frac{\text{-----}}{0,19} \times 10,5$$

В осадках, находившихся после щелочного гидролиза при определении РНК, определяли содержание ДНК. Подсушенные пробирки с осадками заливали 0,5 М раствором  $\text{HClO}_4$  (5 мл на пробу). Гидролиз проводили на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Для расчета используют следующую формулу:

$$C = \frac{D_{270} - D_{290}}{0,19} \times 10,1$$

где С – количество ДНК в мкг на 1 мл надосадочной жидкости.

Определение активности каталазы.

Активность каталазы определяли перманганатометрическим методом. Определение проводили следующим образом: к 10 мл фосфатного буфера pH - 7,8 добавляли оптимальное количество субстрата (3 мл 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и 1 мл раствора фермента. Отсчет времени начинали с момента внесения пробы, через 10 минут реакцию останавливали добавлением 1,5 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (50%). Оставшуюся перекись водорода оттитровывали 0,1М раствором  $\text{KMnO}_4$ . Активность каталазы рассчитывали из того, что 1 мл 0,1М раствора  $\text{KMnO}_4$  соответствует 1,7 мл  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Определение активности супероксиддисмутазы.

Активность СОД определяли дианизидиновым методом, который основан на том, что под действием ультрафиолетового света рибофлавин (Rb) переходит в возбужденное (ионизированное) состояние и в таком виде способен атаковать восстановленный дианизидин ( $\text{DNH}_2$ ). Образующийся флавин - семихинон далее восстанавливает молекулярный кислород с образованием супероксидного радикала. При отсутствии СОД супероксидный радикал восстанавливает радикал дианизидина из реакции. В присутствии СОД концентрация  $\text{O}_2$  очень мала, поэтому радикалы дианизидина взаимодействуют между собой, давая одну

молекулу восстановленного (неокрашенного) и одну молекулу окисленного (окрашенного) дианизидина. Чем выше активность СОД, тем больше образуется окисленной формы дианизидина, имеющий максимум поглощения при 460 нм.

Состав инкубационной среды:

0,1 М фосфатный буфер – 1 мл

Рибофлавин - 0,26 мл

О-дианизидин - 0,04 мл

Анализируемая проба - 0,1 мл

Контрольная проба содержит фермент.

Пробы облучали в течение 10 минут под ультрафиолетовой лампой с расстояния 10 см, охлаждали при комнатной температуре и измеряли оптическую плотность.

Изучение репаративного действия Соед.ІІІ, Соед.V, Соед.VІ, Соед.VІІ показало, что при гепатэктомии происходит достоверное увеличение содержания ДНК и РНК в печени крыс (см. таблицу 18).

Так, содержание ДНК в группах Соед.ІІІ в дозах 0,1 мМ/кг и 0,2 мМ/кг превышали показатели у гепатэктомизированных животных на 15%, причем группы с Соед.ІІІ, Соед.V, Соед.VІ, Соед.VІІ имели более высокую регенерирующую активность по сравнению с группой стандарта 0,2 мМ/кг (оротат калия+рибоксин). По эффективности данные препараты можно расположить следующим образом:  $\text{соед.ІІІ } 0,1 \text{ мМ/кг} > \text{соед.ІІІ } 0,2 \text{ мМ/кг} > \text{соед.VІІ } 0,2 \text{ мМ/кг} > \text{соед.VІ } 0,2 \text{ мМ/кг} > \text{соед.V } 0,2 \text{ мМ/кг} > \{\text{оротат калия} + \text{рибоксин}\} 0,2 \text{ мМ/кг}$ .

По активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) определяли состояние ферментативного звена антиоксидантной защиты. Внимание к этим ферментам обусловлено их физиологической ролью, связанной с окислительными процессами, вовлекающими в круг метаболических превращений молекулярный кислород, перекись водорода и чрезвычайно химически активный радикал кислорода.

В большей степени изменения антиоксидантной активности выражены для каталазы. После лечения наблюдалась достоверная стабилизация каталазной активности для Соед. III в дозе 0,2 мМ/кг и соед. VI в дозе 0,2 мМ/кг. Эти результаты были сопоставимы с данными группы стандарта 0,2 мМ/кг (оротатом калия+рибоксин). Тенденция к усилению репаративных процессов показана также и для остальных препаратов (Соед. III в дозе 0,1 мМ/кг; >Соед. III в дозе 0,2 мМ/кг; >Соед. VI - 0,2 мМ/кг >Соед. V - 0,2 мМ/кг), однако их эффективность была несколько ниже.

Об эффективности терапии можно судить по изменению второго фермента антиоксидантной защиты – СОД. При гепатэктомии отмечено достоверное снижение его активности в печени экспериментальных животных. Введение 0,2 мМ/кг Соед. III или 0,2 мМ/кг соед. VII приводило к выраженной стимуляции репаративных процессов в печени в большей степени, чем при использовании стандартной смеси 0,2 мМ/кг (оротат калия +рибоксин). Положительные сдвиги в изменении активности СОД обнаружены также в группах животных, получавших Соед. III в дозах 0,1 мМ/кг или 0,2 мМ/кг; Соед. V в дозе 0,2 мМ/кг на фоне гепатэктомии.

Таким образом, эффективность изучаемых препаратов по их способности к стабилизации антиоксидантной ферментативной активности оценивается следующим образом: Соед. VII 0,2 мМ/кг > Соед. III 0,2 мМ/кг > Соед. VI 0,2 мМ/кг. (см. Таблица 18).

**Пример испытаний 15.** Морфологическое исследование печени после частичной гепатэктомии и воздействия Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII.

При проведении настоящего исследования большое внимание было уделено морфологическим методам как одним из наиболее доказательных при оценке хода репаративных процессов. Гистологическое исследование ткани печени проводилось по общепринятым методикам. Срезы окрашивали

гематоксилином - эозином, по Ван-Гизону. Исследование печени после частичной гепатозектомии проводили на 8 группах животных (всего 37 крыс). Для всех животных с гепатозектомией срок опыта - 1 неделя после резекции.

Гистологическое исследование под световым микроскопом показало полноценность регенерации печени после частичной гепатозектомии на фоне действия изучаемых препаратов. Отмечено отсутствие каких-либо нежелательных эффектов у препаратов: Соед. III в дозе 0,1 мМ/кг, Соед. VII в дозе 0,2 мМ/кг, Соед. V в дозе 0,2 мМ/кг и комбинации оротата калия с рибоксином в дозе 0,2 мМ/кг. В опытных группах, в отличие от стандартной комбинации, кроме гипертрофии гепатоцитов наблюдалось расширение зон роста с появлением очаговых регенератов, расположенных в периферических зонах, и пролиферация эпителия желчных протоков. Однако, при лечении Соед. III в дозе 0,2 мМ/кг, а также Соед. VI в дозе 0,2 мМ/кг у части животных гипертрофия гепатоцитов сочеталась с подострым гепатитом с выраженным склерогенным изменением портальных трактов и воспалительной инфильтрацией, коррелирующей с дистрофическими изменениями гепатоцитов.

Полученные результаты свидетельствуют, что наиболее эффективным средством активации репаративных процессов в печени является Соед. III, которое на 34,9-50,5 % увеличивает коэффициент полноты регенерации органа, на 15 % превышает показатели у гепатозектомированных животных по содержанию ДНК. Группы животных, получавших Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII, имели более высокую регенерирующую активность по сравнению с комбинацией (оротат калия с рибоксином). По эффективности, данные препараты можно расположить следующим образом: Соед. III 0,1 мМ/кг > Соед. III 0,2 мМ/кг > Соед. VII 0,2 мМ/кг > Соед. VI 0,2 мМ/кг > Соед. V 0,2 мМ/кг > {оротат калия + рибоксин} 0,2 мМ/кг.

**Пример испытаний 16. Гепатопротективное и репаративное действие Соед.ІІІ при интоксикации печени**

Гепатопротективное и репаративное действие Соед.ІІІ изучали на модели интоксикации печени тетрахлорметаном у 20 белых беспородных крыс самцов массой 200-220 г. Нарушение функции печени у крыс моделировали подкожным введением 50% раствора тетрахлорметана на вазелиновом масле в дозе 0,8 мл/100 г массы тела в течение 4 дней. Максимальные морфологические изменения наблюдаются через 7 дней после введения тетрахлорметана. Именно в этот период забирали материал для исследования. Опытная группа животных получала перорально Соед.ІІІ в дозе 20 мг/кг на 8-й день от начала эксперимента и в течение 4 дней. Проводили гистохимическую, гистоморфологическую и морфометрическую оценку срезов печени, а также определяли среднее значение митотического индекса (таблица 19).

На фоне отравления тетрахлорметаном в контрольной группе животных наблюдается сливающийся некроз паренхимы, нарушение балочного строения характерное для печени, преобладание жировой дистрофии и диффузная воспалительная инфильтрация портальной стромы.

У животных, получавших Соед.ІІІ, в печени отмечается уменьшение зон некроза, они не сливаются, а локальны, преобладает белковая дистрофия и очаговая воспалительная инфильтрация портальной стромы. Кроме того, в печени опытных животных во всех отделах долек обнаружены гигантские одноядерные, двухядерные и многоядерные гепатоциты. Наряду с этим также часто выявляются фигуры митозов.

Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии Соед.ІІІ на печень при отравлении тетрахлорметаном, и дают основание полагать, что этот препарат будет полезен и эффективен при заболеваниях печени, в частности, в комплексной терапии хронического вирусного гепатита.

### **Пример испытаний 17.**

Результаты клинического изучения Соед.ІІІ у больных с хроническим активным вирусным гепатитом (20 пациентов) показали, что препарат улучшает клиническую картину и нормализует биохимические показатели, особенно в сочетании с предварительным курсом преднизолонотерапии, уменьшает выраженность и частоту диспептических расстройств, достоверно снижая активность аланинтрансферазы.

**Пример испытаний 18.** Влияние Соед.ІІІ на репаративный остеосинтез костной ткани.

В костной ткани нижней челюсти крыс создавали дефект костной пластины округло-овальной формы диаметром 2,5 мм зубным бором под эфирным наркозом. Животных после операции содержали в отдельных клетках на обычном рационе и свободном доступе к воде. Опыты выполнены на 130 крысах- самцах массой 180-200 г по 10 животных в группе. Лечение опытных групп животных проводили Соед.ІІІ (в дозах 50, 100 мг/кг) или метилурацилом (в дозе 50 мг/кг) через сутки после нанесения травмы и далее ежедневно в течение 3 месяцев. Контрольную группу составили животные с повреждением костной ткани, не получавшие лечения. Динамику репарации поврежденной кости оценивали морфологически на 30, 60 и 90 суток. Исследование микропрепаратов проводилось методом световой микроскопии с увеличениями x15, x100, x200, x400.

- 1 группа – интактные животные;
- 2 группа – контроль (дефект костной пластины) 30сут;
- 3 группа - {дефект костной пластины + Соед ІІІ 50 мг/кг} 30 сут;
- 4 группа – {дефект костной пластины + Соед.ІІІ 100 мг/кг} 30 сут;
- 5 группа - {дефект костной пластины + метилурацил 50 мг/кг} 30 сут;
- 6 группа - контроль (дефект костной пластины) 60сут
- 7 группа - {дефект костной пластины + Соед.ІІІ 50 мг/кг} 60 сут;
- 8 группа - {дефект костной пластины + Соед.ІІІ 100 мг/кг} 60 сут;



- 9 группа - {дефект костной пластины + метилурацил 50 мг/кг} 60 сут;
- 10 группа - контроль (дефект костной пластины) 90сут;
- 11 группа - {дефект костной пластины + Соед.Ш 50 мг/кг} 90 сут;
- 12 группа-- {дефект костной пластины + Соед.Ш 100 мг/кг} 90 сут;
- 13 группа - {дефект костной пластины + метилурацил 50 мг/кг } 90 сут;

Проведенный морфологический анализ показал, что регенерация костной ткани в зонах дефектов под действием Соед.Ш, метилурацила протекает путем первичного заживления с остеогенезом по типу аппозиционного роста зрелой компактной костной ткани. Ни в одном случае не наблюдалось инфицирования раны с изменением характера и сроков заживления костного дефекта. Сроки и характер заживления костных дефектов согласуются с литературными данными о стадиях регенерации костной ткани. Наилучшие результаты в закрытии костного дефекта при применении Соед.Ш отмечаются в группе животных, получавших препарат в дозе 50 мг/кг в течение 3 месяцев (Рис. 4Б), по сравнению с контролем (Рис.4А) и другими опытными группами (Рис.4В, 4Г). В этих условиях дефект почти полностью закрыт новообразованной костной тканью “первичная костная мозоль”.

**Пример испытаний 19.** Оценка эффекта курсовой терапии Соед.Ш у больных ИМ (подострая стадия заболевания).

Больные были разделены на 2 группы. Существенных различий между группами больных по возрасту и основным характеристикам очага некроза не отмечалось. 1-ю группу составили 63 больных, получавших традиционную терапию, 2-ю группу 44 больных, которым помимо традиционного лечения с 7 по 28 сутки заболевания назначался Соед.Ш в дозе 600мг/сут. Контрольная группа состояла из 14 здоровых мужчин в возрасте от 26 до 42 лет. Средний возраст больных первой группы составил 50,3 года, второй группы – 49,5 лет. Повторные ИМ были диагностированы у 20% больных 1-ой и 25% больных 2-ой группы. Локализация очага некроза в передне-перегородочной и передне-боковой

областях левого желудочка у больных 1-ой группы отмечалась с частотой 0,47 и у больных 2-ой группы – с частотой 0,38. Нижняя и нижне-боковая локализация очага некроза была выявлена у 0,53 больных 1-ой и 0,62 больных 2-ой группы.

В течение всего периода наблюдения у больных обеих групп оценивали клинические данные, получаемые при ежедневных осмотрах, и результаты электрокардиографического исследования в 12 отведениях. На 7-е и 28-е сутки течения ИМ исследовали клинический анализ крови, содержание в плазме (сыворотке) крови билирубина, сахара, креатинина, холестерина, бета-липопротеидов, калия, натрия, определяли активность протомбинового комплекса, время рекальцификации, общий анализ мочи.

Центральная гемодинамика исследовалась методом интегральной реографии тела: рассчитывали ударный объем (УИ) и сердечный (СИ) индексы. Показатели сократимости левого желудочка – конечный диастолический объем (КДО), фракции выброса (ФВ), степень систолического укорочения передне-заднего размера полости ( $\% \Delta S$ ) – исследовали методом эхографии на аппарате SSD-119 фирмы “Aloka” (Япония). Исследования центральной и внутрисердечной гемодинамики проводили в 1, 7, 14, 21 и 28-е сутки заболевания.

По данным физикального исследования, существенных различий между группами больных за время наблюдения не отмечали.

Результаты клинических испытаний Соед.ІІІ свидетельствуют о том, что курсовая терапия больных ИМ в течение трех недель (с 7-х по 28-е сутки заболевания) при дозе 600мг/сут не сопровождается какими либо клиническими побочными эффектами. На фоне терапии Соед.ІІІ наблюдается повышение содержания в сыворотке крови непрямого и вследствие этого общего билирубина, которое, однако, не выходит за верхнюю границу нормальных значений. Сочетание курсового лечения Соед.ІІІ с традиционной терапией больных ИМ способствует увеличению скорости и степени восстановления

сократимости миокарда левого желудочка. Полученные данные позволяют рекомендовать Соед.ІІІ для лечения больных ИМ в подостром периоде заболевания.

**Пример испытаний 20.** Изучение клинической эффективности Соед.ІІІ в подостром периоде ИМ в сравнении с рибоксином.

Всего обследовано 270 больных, из них:

Соед.ІІІ получали 102 человек

Плацебо 20 человек

Рибоксин 58 человек

Традиционная терапия 90

Все больные до начала терапии Соед.ІІІ, через 14 дней и по завершении курса лечения проходили стандартные лабораторные тесты. Исследования включали: клинический анализ крови, общий анализ мочи, определение креатинина, билирубина, активности трансаминаз, сахара крови, холестерина и бета-липопротеидов, малоновый диальдегид (МДА), оснований Шиффа (ОШ), минерального обмена цинка, железа, меди, калия и натрия плазмы, протромбина и фибриногена, и ЭКГ-исследование в динамике.

Всем больным применяли традиционную терапию: нитраты, антиагреганты, при необходимости гипотензивные средства.

В комплексную терапию входил Соед.ІІІ (1-я группа – 32 больных), либо рибоксин (2-я группа – 18 больных). Препараты применяли в дозе 200 мг 3 раза в день.

Наряду с улучшением субъективных данных, Соед.ІІІ оказывал положительное влияние на сократительную функцию миокарда, т.к. наблюдалось достоверное увеличение фракции выброса от  $54,4 \pm 1,5\%$  (без препарата) до  $60,0 \pm 0,5\%$  (примерно на 6% больше), чего не отмечалось в группе больных, принимавших рибоксин  $56,8 \pm 1,3\%$ .

У больных, принимавших Соед.ІІІ, отмечалась тенденция к нормализации холестерина в 96,5% и снижению уровня протромбина в 91,3%, тогда как у больных, принимавших рибоксин, эти показатели соответствовали 85,5% и 88,7%.

Наиболее выраженный терапевтический эффект наблюдали у больных с повторным ИМ, где рубцевание наступало на 1-2 дня раньше (в среднем 27 дней) 90%, чем в группе, принимавших рибоксин 12%.

Интересные данные были получены при изучении электролитного состава крови, и в частности, таких микроэлементов, как цинк и медь. Известно, что уровень цинка падает при ИМ, а на фоне приема Соед.ІІІ уровень цинка существенно повышается, в то время как в группе, принимавших рибоксин, он оставался ниже нормы на протяжении всего курса лечения. Во время приема Соед.ІІІ установлена зависимость повышения уровня меди от увеличения содержания супероксиддисмутазы (антиоксидантный плазменный фермент), которая отражает нормализацию процесса гомеостаза. У больных, принимавших рибоксин, такой зависимости не отмечено.

В патогенезе ИБС большое значение придается интенсификации процессов ПОЛ с одновременным снижением активности антиоксидантных систем. У всех больных отмечался исходно высокий уровень показателей ПОЛ (МДА и ОШ). До лечения у всех больных МДА был выше нормы и составил в среднем 1,3 нмоль/мл при норме 1,21 нмоль/мл. На фоне приема Соед.ІІІ, на 21-й день, отчетливо видно снижение МДА до 1 нмоль/мл. Снижение уровня МДА при приеме рибоксина соответствует течению ИМ. Уровень ОШ до лечения превысил норму (60 у.ед.) и составил 75 у.ед., после лечения Соед.ІІІ отмечено резкое снижение до 40 у.ед., тогда как после лечения рибоксином уровень ОШ составил 62,6 у.ед. Активность СОД до лечения была низкой в обеих группах и составила в среднем 18-20 у.ед., после лечения Соед.ІІІ уровень СОД превысил норму (23

у.ед.) и составил 25 у.ед., тогда как после лечения рибоксином этот показатель не только не изменился, но и несколько понизился до 21.5 у. ед.

Все больные, принимавшие Соед.ІІІ, хорошо переносили курсовое лечение, не наблюдалось побочного действия и аллергических реакций.

Таблица 1.

## Данные элементного анализа соединений II-VIII

Соединение	Брутто-формула	Найдено			Вычислено		
		C	H	N	C	H	N
II	$C_{15}H_{20}N_4O_5S$	48.95 48.48	5.60 5.47	14.63 14.87	48.90	5.47	15.21
III	$C_{16}H_{22}N_4O_5S$	50.81 50.81	5.84 6.13	14.41 14.65	50.25	5.80	14.65
IV	$C_{17}H_{24}N_4O_5S$	51.18 51.23	6.07 6.11	14.13 14.33	51.50	6.10	14.13
V	$C_{10}H_{17}N_4O_2Cl$	46.13 46.35	6.57 6.31	21.47 21.06	46.07	6.57	21.29
VI	$C_{17}H_{22}N_4O_4$	58.75 59.08	6.39 6.77	15.94 16.09	58.93	6.41	16.18
VII	$C_{17}H_{22}N_4O_5 \cdot 2H_2O$	51.71 51.55	6.40 6.35	13.94 14.21	51.25	6.58	14.06
VIII	$C_{17}H_{22}N_4O_6$			14.93 15.01			14.81

соед. II вычислено.

Таблица 2.

Данные спектров ПМР соединений II-VIII (DMSO-d<sub>6</sub>)

Соединение	δ, мд.
II	2.78 s [3H, (NH)-CH <sub>3</sub> ], 2.80 s [3H, (NH)-CH <sub>3</sub> ], 3.87 s [6H, N1(3)-CH <sub>3</sub> ], 7.31-7.60 [5H, arom H], 8.77-8.78 [2H, NH], 9.26 s [1H, (C2)-H]
III	1.37 t [3H, CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> , J=7 Hz], 2.79 s [3H, NH-CH <sub>3</sub> ], 2.80 s [3H, (NH)-CH <sub>3</sub> ], 3.87 s [3H, N1-CH <sub>3</sub> ], 4.28 q [2H, CH <sub>2</sub> , J=7 Hz], 7.32-7.60 [5H, arom H], 8.73-8.82 [2H, NH], 9.35 s [1H, (C2)-H]
IV	1.38 t [6H, 2 (CH <sub>2</sub> )-CH <sub>3</sub> , J=7 Hz], 2.80 s [6H, 2 (NH)-CH <sub>3</sub> ], 4.30 q [2H, 2 (CH <sub>3</sub> )-CH <sub>2</sub> , J=7 Hz], 7.31-7.59 [5H, arom H], 8.80 [2H, 2 NH], 9.41 s [1H, (C2)-H]
V	1.38 t [3H, CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> , J=7 Hz], 2.78-2.79 [6H, (NH)-CH <sub>3</sub> ], 3.90 s [3H, N1-CH <sub>3</sub> ], 4.30 q [2H, CH <sub>2</sub> , J=7 Hz], 9.35 s [1H, NH], 9.42 s [1H, NH], 9.64 s [1H, (C2)-H]
VI	1.31 t [3H, CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> , J=7 Hz], 2.81 s [6H, 2 NH-CH <sub>3</sub> ], 3.79 s [3H, N1-CH <sub>3</sub> ], 4.20 q [2H, CH <sub>2</sub> , J=7 Hz], 7.29-7.78 m [5H, arom H], 9.42-10.1 [3H, 2 NH, (C2)-H]
VII	1.37 t [3H, CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> , J=7 Hz], 2.81 s [6H, 2 NH-CH <sub>3</sub> ], 3.87 s [3H, N1-CH <sub>3</sub> ], 4.30 q [2H, CH <sub>2</sub> , J=7 Hz], 6.63-7.71 [4H, arom H], 8.94 s [1H, NH], 9.00 s [1H, NH], 9.40 s [1H, (C2)-H]
VIII	1.37 t [3H, CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> , J=7 Hz], 2.80 s [6H, 2 NH-CH <sub>3</sub> ], 3.86 s [3H, N1-CH <sub>3</sub> ], 4.28 q [2H, CH <sub>2</sub> , J=7 Hz], 6.45-7.15 [3H, arom H], 8.5 s [1H], 9.02-9.08 s [2H, 2NH], 9.40 s [1H, (C2)-H]

соед. 3 известно

**Таблица 3.**

Острая токсичность солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия (LD<sub>50</sub>)

Наименование	Вид животных	Путь введения	LD <sub>50</sub> мг/кг
Соед. II	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	2100
Соед. III	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	1833
Соед. IV	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	683
Соед. V	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	764
Соед. VI	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	1221
Соед. VII	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	1292
Соед. VIII	Мыши-самцы	внутрибрюшинно	1180

*соед. II субсептико*



**Таблица 4.**

Влияние солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия на фазу острого воспаления у мышей, вызванного Кон А.

Группа животных n=10	Индекс реакции, %
Физиологический раствор+ Кон А	20,2±3,8
Соед. III 10 мг/кг + Кон А	14,6±3,5
Соед. III 50 мг/кг + Кон А	5,3±2,0*
Соед. VII 10 мг/кг + Кон А	10,4±2,0*
Соед. VII 50 мг/кг + Кон А	8,4±0,9*
Соед. VI 10 мг/кг + Кон А	9,5±2,5*
Соед. VI 50 мг/кг + Кон А	9,5±2,0*
Соед. V 10 мг/кг + Кон А	14,1±2,0
Соед. V 50 мг/кг + Кон А	12,4±0,4*
Соед. VIII 50 мг/кг + Кон А	7,2±1,8*

Примечание. \* - достоверность различий между опытными группами и контролем (Кон А) –  $P < 0,001$

*согр. И. И. И. И. И.*

**Таблица 5.**

Определение  $ED_{50}$  - дозы, вызывающей уменьшение острого отека лапы на 50%, индуцированного Кон А.

Группа животных n=10	Индекс реакции, %	уменьшение отека лапы, %
Физиологический раствор+ Кон А	16,0	0
Соед. III 10 мг/кг + Кон А	$11,1 \pm 3,5$	33
Соед. III 19 мг/кг + Кон А (0,005M)	$5,4 \pm 2,0$	66
Соед. III 38 мг/кг + Кон А (0,01M)	$7,7 \pm 1,8$	52
Соед. III 57 мг/кг + Кон А (0,015)	$5,3 \pm 2,0$	66
Соед. III 76 мг/кг + Кон А (0,02M)	$3,3 \pm 2,0$	77
Соед. VIII 16,4 мг/кг + Кон А (0,005M)	$6,73 \pm 2,2$	60
Соед. VIII 32 мг/кг + Кон А (0,01M)	$9,93 \pm 2,8$	13
Соед. VIII 49 мг/кг + Кон А (0,015M)	$7,2 \pm 1,8$	45
Соед. VIII 65,6 мг/кг + Кон А (0,02M)	$4,9 \pm 1,7$	70

*соед. I увеличено*

Таблица 6.

*уменьшило*

Влияние длительного введения Соед. III на фазу острого эксудативного воспаления у крыс, вызванного каррагенином

Группа животных	Индекс реакции, %	Торможение отека (%)
Интактные животные+ (физиолог.раствор) перорально + каррагенин (0,1мл 1% раствора, субплантарно) n=10	43,04±3,58	0
Интактные животные+Соед. III 50 мг/кг перорально 4 дня + каррагенин n=10	29,96±2,30*,**	30,41
Адреналэктомированные животные + Соед. III 50 мг/кг перорально 4 дня + каррагенин n=10	31,04±2,49*,**	27,88
Интактные животные + Соед. III 100 мг/кг перорально 4 дня + каррагенин n=10	22,63±2,86*,**	47,43
Адреналэктомированные животные + Соед. III 100 мг/кг перорально 4 дня + каррагенин n=10	25,63±2,86*,**	44,43
Интактные животные + Ибупрофен 48 мг/кг перорально 4 дня + каррагенин n=10	15,88±1,88*	63,39
Адреналэктомированные животные + Ибупрофен 48 мг/кг перорально 4 дня + каррагенин n=10	18,12±1,82*	57,90

Примечание.  $P < 0,001$  – \* достоверность различий между опытными группами и контролем;

– \*\* то же самое между действием Соед. III и контролем.

Таблица 7.

*известно*

Влияние длительного введения Соед. III на фазу острого воспаления у крыс, вызванного введением брадикинина

Препарат	Объем лапки (мл вытесненной воды)		Увеличение объема лапки (мл)	Торможение отека (%)
	исходный	через 30 минут после введения брадикинина		
Брадикинин (0,1мл 0,01% р-ра, субплантарно n=12	1,23±0,043	1,92±0,070	0,69	0
Соед. III 20 мг/кг, перорально 4 дня + брадикинин n=12	1,39±0,040	1,80±0,060	0,41	40,58
Соед. III 50 мг/кг, перорально 4 дня + брадикинин n=12	1,35±0,038	1,69±0,060*	0,34	50,72
Пармидин 50 мг/кг, перорально 4 дня + брадикинин n=12	1,27±0,038	1,61±0,051*	0,34	50,72
Бутадион 60 мг/кг, перорально 4 дня + брадикинин n=12	1,33±0,061	1,60±0,07*	0,27	60,87

Примечание \* - достоверность различий между Бутадионом, Пармидином, Соед. III и контролем –  $P < 0,001$ .

Таблица 8.

Влияние Соед. III на развитие экспериментальной гранулемы у крыс

Группа животных	Масса гранулемы (мг)	
	сырая	сухая
1. Контроль (0,5 мл крахмала в течение 12 дней) + имплантация ватного шарика n=10	1375,8±61,85	249,6 ±13,27
	<u>Экссудативная фаза</u> 1126,2	<u>Пролиферативная фаза</u> 209,6
2. Соед. III 100 мг/кг, перорально в течение 12 дней) + имплантация ватного шарика n=10	956,29±115,5*	180,71±14,16*
	<u>Экссудативная фаза</u> 775,58	<u>Пролиферативная фаза</u> 140,71
3. Ибупрофен (48 мг/кг, перорально в течение 12 дней) + имплантация ватного шарика n=10	814,0±63,72**	143,2±9,83**
	<u>Экссудативная фаза</u> 670,8	<u>Пролиферативная фаза</u> 103,2
4. Бутадион (60 мг/кг, перорально в течение 12 дней) + имплантация ватного шарика n=10	828,0±76,68**	145,4±7,45**
	<u>Экссудативная фаза</u> 682,6	<u>Пролиферативная фаза</u> 105,4

Примечание.

P&lt;0,01\* - достоверность различий между 2-ой опытной группой и контролем;

P&lt;0,001\*\* – достоверность различий между 3-ей опытной группой и контролем; - то же самое между 4-ой опытной группой и контролем.

*соед. III увеличивает*

Таблица 9.

## ДИНАМИКА ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН

П л о щ а д ь   р а н   в   %						
№ п/п	Группы животных	До лечения	5 сутки	10 сутки	15 сутки	20 сутки
1.	Плацебо <sup>1</sup>	100,0	106,9	43,8	24,1	11,6
2.	Соед. III <sup>2</sup> (10 % мазь)	100,0	84,0	8,1	0,4	0,1
3.	Солкосерил (гель)	100,0	89,2	22,6	10,4	3,8
4.	Спасатель (бальзам)	100,0	89,6	23,8	11,0	5,8

<sup>1</sup> - мазевая основа-ланолин<sup>2</sup> - Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия*губергисс*

Таблица 10.

### СРОКИ ЗАЖИВЛЕНИЯ РАН

№ п/п	Группы животных	Сроки эпителизации (сутки)
1.	Контроль (самозаживление)	29,2±1,1
2.	Плацебо <sup>1</sup>	24,5±1,1*
3.	Соед.Ш <sup>2</sup> (10 % мазь)	16,8±1,9***
4.	Солкосерил (гель)	24,0±2,4*
5.	Спасатель (бальзам)	23,5±2,3*

<sup>1</sup>- мазевая основа- ланолин

<sup>2</sup>- Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия  
*это соед. известно.*

\*- различия достоверны по сравнению с контролем,  $P < 0,05$

\*\*- различия достоверны по сравнению с плацебо,  $P < 0,05$

Таблица 11.

## ДИНАМИКА МАССЫ ТЕЛА КРЫС ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ РАН

№ п/ п	Группа Животных	До лечения		5 сутки		10 сутки		15 сутки		20 сутки	
		г	%	г	%	г	%	г	%	г	%
1.	Контроль (без лечения)	272±12,6	100	279±10,5	102,6	279±8,4	102,6	294±11,6	108,1	301±12,6	110,7
2.	Плацебо <sup>1</sup>	229±13,7	100	240±16,8	104,8	245±12,6	107,0	252,5±12,6	110,3	257,5±12,6	112,4
3.	Соед. III <sup>2</sup> (мазь 10%)	226±8,4	100	236±8,4	104,4	246±1,1	108,8	253,3±2,1	112,1	268,0±4,2	118,6
4.	Солкосерил (гель)	235±6,3	100	250±6,3	106,4	264±8,4	112,3	272±10,5	115,7	279,0±8,4	118,7
5.	Спасатель (бальзам)	230±8,4	100	244±10,5	106,1	250±10,5	108,7	255±12,6	110,9	258,0±12,6	112,2

<sup>1</sup> Плацебо-мазевая основа - ланолин<sup>2</sup> -Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия



Таблица 12.

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ РАН**

№ п/п	Группа Животных	СОЭ мм/ч	Лейкоциты $10^9/\text{л}$	Лейкоцитарная формула (%)					
				Палочко-ядерные	Сегментоядерные	Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты
1.	Интактные	$2,3 \pm 1,3$	$7,2 \pm 1,3$	$1,3 \pm 0,3$	$30,0 \pm 5,1$	$1,7 \pm 0,3$	0	$3,7 \pm 0,7$	$63,3 \pm 6,2$
<b>5 суток</b>									
2.	Контроль (без лечения)	$1,80 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$43,2 \pm 3,0$	$2,0 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,9$	$49,6 \pm 3,7$
3.	Плацебо <sup>1</sup>	$1,8 \pm 0,4$	$5,5 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,2$	$37,8 \pm 3,9$	$2,8 \pm 0,6$	$0,4 \pm 0,2$	$5,0 \pm 1,1$	$52,8 \pm 3,2$
4.	Соед. III <sup>2</sup> (мазь 10 %)	$2,2 \pm 0,6$	$6,6 \pm 0,9$	$1,4 \pm 0,4$	$35,2 \pm 4,4$	$2,6 \pm 0,6$	0	$8,2 \pm 0,8$	$52,6 \pm 4,5$
5.	Солкосерил (гель)	1,0±0	$5,8 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,2$	$40,2 \pm 2,5$	$3,2 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,8$	$51,0 \pm 3,3$
6.	Спасатель (бальзам)	$1,8 \pm 0,4$	$5,2 \pm 0,4$	1,0±0	$39,4 \pm 3,0$	$3,6 \pm 0,5$	0	$5,0 \pm 1,2$	$50,8 \pm 2,7$

<sup>1</sup> -мазевая основа-ланолин<sup>2</sup> -Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия  
*соед. сев. септ. сев. сев.*

Таблица 13.

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ РАН**

№ п/п	Группа животных	СОЭ мм/ч	Лейкоциты 10 <sup>9</sup> /л	Лейкоцитарная формула (%)					
				Палочко- ядерные	Сегменто- ядерные	Эозино- филы	Базо- филы	Моно- циты	Лимфо- циты
10 суток									
1.	Контроль (без лечения)	1,2±0,2	8,6±1,0	3,0±0,5	23,5±5,2	2,7±0,5	0,4±0,2	3,4±0,6	67,0±5,9
2.	Плацебо <sup>1</sup>	1,3±0,3	7,2±1,1	1,3±0,3	39,3±1,3	3,3±1,0	0	6,0±0,7	50,3±1,7
3.	Соед. III <sup>2</sup> (мазь 10 %)	1,0±0	7,9±0,6	1,2±0,2	29,6±2,2	2,4±0,5	0,6±0,2	2,4±0,5	63,8±1,9
4.	Солкосерил (гель)	1,6±0,4	9,2±0,8	1,8±0,4	29,6±2,5	3,2±0,6	0,2±0,2	2,8±0,6	62,4±2,5
5.	Спасатель (бальзам)	1,2±0,2	9,4±0,8	1,4±0,2	40,0±3,0	2,0±0,6	0,2±0,2	1,8±0,4	54,6±2,3

<sup>1</sup> -мазевая основа-ланولين<sup>2</sup> -Бензолсульфонат 1-этил-3-метил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия

это согр. вещество

**Таблица 14. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ЛЕЧЕНИИ  
ПОЛНОСЛОЙНЫХ КОЖНЫХ РАН**

№ п/ п	Группа животных	СОЭ мм/ч	Лейкоциты 10 <sup>9</sup> /л.	Лейкоцитарная формула (%)					
				Палочко- ядерные	Сегменто- ядерные	Эозино- филы	Базофилы	Моноциты	Лимфоциты
15 суток									
1.	Контроль (без лечения)	1,8±0,4	10,1±2,3	1,8±0,4	35,4±5,7	3,6±1,7	0,2±0,2	5,4±1,7	53,8±5,8
2.	Плацебо <sup>1</sup>	1,4±0,2	9,4±1,4	1,4±0,2	29,4±2,6	2,2±0,6	0,4±0,2	4,8±0,6	62,0±2,3
3.	Соед. III <sup>2</sup> (мазь 10 %)	1,4±0,2	11,1±1,6	1,2±0,2	21,0±3,1	2,8±0,2	0,4±0,2	4,0±0,7	70,6±3,4
4.	Солкосерил (гель)	1,6±0,2	7,8±1,2	1,2±0,2	31,8±4,9	5,6±1,3	0,4±0,2	4,2±0,9	56,0±5,3
5.	Спасатель (бальзам)	1,4±0,2	6,6±0,7	1,0±0	34,0±2,4	3,0±0,9	0,6±0,4	6,4±1,2	55,0±1,9

<sup>1</sup> -мазевая основа-ланолин

<sup>2</sup> -Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия

ЭТО СОВЕРШЕННО

Таблица 15.

## ОБЩИЙ БЕЛОК И БЕЛКОВЫЕ ФРАКЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У КРЫС

№п/п	Группа животных	Общий белок	Альбумины в %	Глобулины в %	Г л о б у л и н ы				Соотношение А/Г
					$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\gamma$	
1.	Интактные	65,57±1,15	44,8±0,7	55,2±0,7	12,1±1,4	9,0±1,5	21,4±1,99	12,7±1,2	0,82±0,02
5 суток									
2.	Контроль (самозаживание)	56,8±1,72	39,2±3,6	60,8±3,6	19,4±0,9	10,9±1,1	16,5±0,96	14,1±3,1	0,67±0,09
3.	Плацебо <sup>1</sup>	59,34±0,89	41,8±1,4	58,2±1,4	17,1±1,5	13,3±0,6	17,6±2,3	10,1±1,2	0,72±0,04
4.	Соед. III <sup>2</sup> (10 % мазь)	57,45±0,64	37,2±2,5	62,8±2,5	16,8±0,4	16,0±1,5	18,3±1,4	11,3±0,7	0,60±0,07
5.	Солкосерил (гель)	61,51±2,18	37,3±2,0	62,7±2,0	17,0±1,2	15,7±1,5	21,5±1,6	8,5±1,3	0,60±0,05
6.	Спасатель (бальзам)	59,54±2,05	41,0±2,3	59,0±2,3	19,6±1,5	14,0±1,3	16,7±1,4	8,7±0,5	0,71±0,07

<sup>1</sup> - ланолиновая основа<sup>2</sup> - Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия*дано едос. (ср. белок)*

Таблица 16.

## ОБЩИЙ БЕЛОК И БЕЛКОВЫЕ ФРАКЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У КРЫС

№ п/п	Группа животных	Общий белок	Альбуми- ны в %	Глобули- ны в %	Г л о б у л и н ы				Соотношение А/Г
					α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	β	γ	
10 суток									
1.	Контроль (самозаживле- ние)	56,40±0,98	43,5±0,8	56,5±0,8	11,9±0,8	9,5±0,9	21,0±0,8	14,2±0,6	0,77±0,03
2.	Плацебо <sup>1</sup>	66,88±1,07	50,0±1,9	50,0±1,9	12,5±0,3	8,3±0,3	18,2±1,6	11,0±0,8	1,01±0,08
3.	Соед.Ⅲ <sup>2</sup> (10 % мазь)	64,77±1,44	42,9±0,9	57,1±0,9	13,2±0,8	8,8±0,5	21,7±0,9	13,3±0,6	0,75±0,03
4.	Солкосерил (гель)	55,11±0,76	41,5±1,8	58,5±1,8	15,6±0,4	8,8±0,8	20,0±1,5	14,0±0,7	0,72±0,06
5.	Спасатель (бальзам)	60,62±0,87	43,4±1,6	56,6±1,6	16,0±0,7	9,8±0,6	18,4±0,8	12,3±0,8	0,77±0,05

<sup>1</sup> - ланолиновая основа<sup>2</sup> - Бензолсульфонат 1-метил-3-этил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия

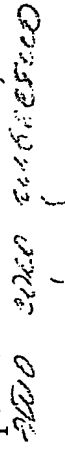

  
CN1C=NC2=C1C(=N2)C(=O)N(C)C

Таблица 17.

## ОБЩИЙ БЕЛОК И БЕЛКОВЫЕ ФРАКЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У КРЫС

№ п/п	Группа животных	Общий белок	Альбуми- ны в %	Глобулины в %	Г л о б у л и н ы				Соотношение А/Г
					$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\gamma$	
15 суток									
1..	Контроль (самозажив- ление)	58,93±1,29	46,9±1,7	53,1±1,7	10,3±1,0	10,2±1,6	18,7±0,4	13,9±0,4	0,89±0,06
2.	Плацебо- <sup>1</sup>	59,22±1,65	48,2±2,4	51,8±2,4	10,1±0,3	10,0±1,1	17,3±1,1	14,4±0,6	0,94±0,08
3.	Препарат- <sup>2</sup> (10 % мазь)	59,06±1,97	48,3±1,7	51,7±1,7	10,3±0,9	7,9±0,7	19,6±1,5	13,8±1,1	0,94±0,06
4.	Солкосерил (гель)	59,93±0,51	47,8±0,6	52,2±0,6	11,7±0,9	7,6±0,5	18,9±0,9	13,9±0,5	0,92±0,02
5.	Спасатель (бальзам)	63,24±1,19	47,0±2,4	53,0±2,4	11,5±0,9	8,1±0,6	21,5±1,3	11,9±0,8	0,90±0,08

<sup>1</sup>-Плацебо-мазевая основа -ланолин<sup>2</sup>-Бензолсульфонат 1-этил-3-метил-4,5-бис (N-метилкарбамоил)-имидазолия

24.02.2020  
 02.03.2020  
 04.03.2020  
 06.03.2020  
 08.03.2020  
 10.03.2020  
 12.03.2020  
 14.03.2020  
 16.03.2020  
 18.03.2020  
 20.03.2020  
 22.03.2020  
 24.03.2020  
 26.03.2020  
 28.03.2020  
 30.03.2020  
 31.03.2020

Таблица 18.

Влияние солей N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолия (Соед. III, Соед. V, Соед. VI, Соед. VII) на регенерацию печени после частичной гепатэктомии

*уфаев*

Показатели	Группы животных		Гепатэктомия + лечебные препараты					
	интактные животные n=7	гепатэктомия (контроль) n=7	Соед. III 0,1 мМ/кг n=7	Соед. III 0,2 мМ/кг n=7	Соед. VI 0,2 мМ/кг n=7	Соед. VII 0,2 мМ/кг n=7	Соед. V 0,2 мМ/кг n=7	оротат капп +рибоксин 0,2 мМ/кг
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Коэффициент полноты регенерации, %	-	100	150,5	134,9	120,3	105,0	128,3	144,7
Содержание РНК мг/г ткани	5,42±0,17	7,23±0,25	7,07±0,18	6,96±0,39	7,46±0,14	7,41±0,16	7,14±0,2	6,95±0,35
Содержание ДНК мг/г ткани	2,99±0,21	3,65±0,12	4,2±0,37	4,1±0,13	3,76±0,29	3,88±0,17	3,72±0,09	3,48±0,19
Активность каталазы Е мкМ/мин/г ткани x1000	34,0±1,86	14,0±0,9	18,0±3,1	20,0±1,92	17,3±2,6	20,0±2,7	18,0±2,6	23,0±3,1
Активность СОД Е/г ткани	90,8±1,35	72,7±5,9	78,9±5,8	98,0±4,6	103,0±4,4	100,0±4,7	90,0±3,3	80,36±%7
Содержание ка ткани	107,0±4,9	93,2±7,0	86,4±9,8	94,8±8,4	86,8±6,9	93,0±14,0	85,5±10,6	91,5±8,5

**Таблица 19.**

Сопоставление основных морфологических показателей у животных контрольной и опытной групп после отравления тетрахлорметаном

Показатели (в условных единицах измерения)	Группы животных	
	контрольная	Соед. III 20 мг/кг
Некрозы гепатоцитов	$8,2 \pm 0,24$	$2,7 \pm 0,3$
Элиминация гликогена из зон поражения	$1,8 \pm 0,2$	$4,9 \pm 0,4$
Среднее значение митотического индекса	$0,012 \pm 0,001$	$0,021 \pm 0,00013$

Примечание  $P < 0,001$

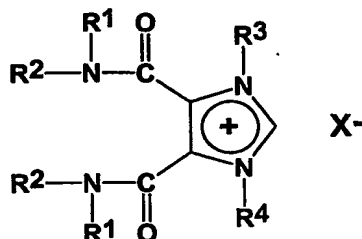
*увесисто*



## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

20-лет 2, III и IV  
Субсидия

① Новые производные имидазолия формулы (1):



в которой  $R^1$  и  $R^2$  могут быть одинаковыми или разными и каждый отобран из группы: водород, алкильный радикал, линейный или разветвленный, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, необязательно замещенный аминогруппой, нитрогруппой, карбоксигруппой, карбоксамидгруппой или сульфамидной группой;  $R^3$  и  $R^4$  могут быть одинаковыми или разными, и каждый может быть линейным или разветвленным алкильным радикалом, содержащим от 1 до 6 атомов углерода;  $X^-$  представляет собой любой фармацевтически приемлемый анион неорганической или органической кислоты, отобранный из группы: хлор, бром, иод, сульфат, нитрат, перхлорат, бензолсульфонат, метилсульфонат, п-толуолсульфонат, формиат, ацетат, фумарат, малеинат, малонат, цитрат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксibenzoат, нафталин-8-сульфонат.

2. Соединения формулы (1) по п.1, отличающиеся тем, что  $R^1$  и  $R^2$  различны, причем если  $R^1$  является водородом, то  $R^2$  - метильная группа;  $R^3$  и  $R^4$  одинаковы или различны, и каждый независимо является метильным радикалом необязательно замещенным этильным радикалом;  $X^-$  является анионом органической кислоты выбранным из группы: бензолсульфонат, метилсульфонат, п-толуолсульфонат, формиат, ацетат, фумарат, малеинат, малонат, цитрат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксibenzoат, нафталин-8-сульфонат.

3. Соединения формулы (1) по п.2, отличающиеся тем, что  $X^-$  является анионом бензосульфокислоты.

4. Соединения формулы (1) по п.1, отличающиеся тем, что  $R^1$  и  $R^2$  различны, если  $R^1$  -метильная группа, то  $R^2$  -водород;  $R^3$  и  $R^4$  одинаковые или разные, и каждый может быть алкильным радикалом с 1-6 атомами углерода, необязательно замещенным алкилом с 1 - 4 атомами углерода,  $X^-$  является анионом органической кислоты, выбранным из группы: бензолсульфонат, бензоат, салицилат, 2,4-дигидроксibenзоат.

5. Соединения формулы (1) по п.4, отличающиеся тем, что  $R^3$  - метильный радикал, а  $R^4$  - этильный радикал;

6. Соединения формулы (1) по п.4, отличающиеся тем, что если  $R^1$  - водород, то  $R^2$  - алкильная группа с 1- 6 атомами углерода;  $R^3$  и  $R^4$  одинаковые или разные, и каждый может быть алкильным радикалом с 1- 6 атомами углерода, необязательно замещенным алкилом с 1 - 4 атомами углерода,  $X^-$  является анионом неорганической кислоты, выбранным из группы: хлор, бром, иод.

7. Соединения формулы (1) по п.5, отличающиеся тем, что  $R^3$  - метильный радикал, а  $R^4$  - этильный радикал.

8. Соединения формулы (1) по п.1, отличающиеся тем, что указанными производными имидазолия являются:

1,3-диметил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат,

1,3-диэтил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензосульфонат,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия бензоат,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2-гидроксibenзоат,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия 2,4-дигидроксibenзоат,

1-метил-3-этил-4,5-бис(N-метилкарбамоил)имидазолия хлорид.

9. Способ получения соединений формулы (1) по п.1, заключающийся в том, что на первой стадии бис(N-замещенный амид)1-алкилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты подвергают реакции алкилирования с алкиловым

эфиром бензолсульфо кислоты, а на второй стадии производят замену аниона в N-замещенных 1,3-диалкил-4,5-бис(карбамоил)имидазолиях бензолсульфонатах.

10. Соединения по п.1, а также их возможные соли с фармацевтически приемлемыми минеральными или органическими кислотам в качестве лекарственного средства.

11. Способ лечения воспалительных процессов, предусматривающий введение млекопитающему терапевтически эффективного для лечения в зависимости от состояния больного соединения по п.1.

12. Способ лечения ран и ускорения процессов их заживления путем первичного натяжения без рубцевания соединительной ткани предусматривающий нанесение на органы млекопитающего терапевтически эффективного для лечения в зависимости от состояния больного соединения по п.1.

13. Способ лечения млекопитающих путем ускорения процессов заживления при повреждении различных органов и тканей предусматривающий введение млекопитающему терапевтически эффективного для лечения в зависимости от состояния больного соединения по п.1.

14. Фармацевтическая композиция, включающая в себя терапевтически эффективное количество по крайней мере одного соединения по любому из пунктов 1-10, и фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель.

15. Использование соединений формулы (1) для получения фармацевтических композиций, обладающих ранозаживляющей активностью и предназначенных для лечения хирургических, травматических, трофических и других ран, ожогов, диабетических язв, варикозных язв, трофических язв, изъязвлений слизистой ротовой полости (афты) и, возможно, роговичных язв.

16. Использование соединений формулы (1) для получения

фармацевтических композиций, обладающих репаративной активностью и предназначенных для лечения переломов костей и повреждений различных тканей: слизистых, мышечных, тканей сердца и печени, в частности, включая, но не ограничиваясь этим, для лечения язвенной болезни желудка и кишечника, гепатитов, инфаркта миокарда и его последствий.

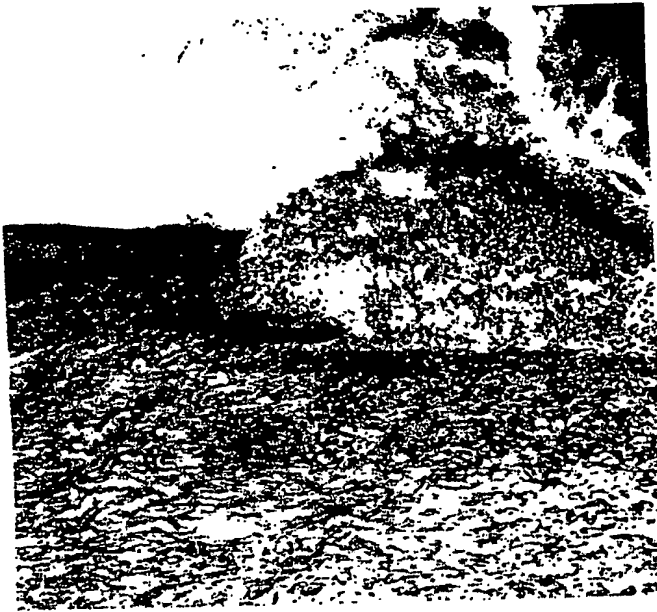


Рис. 1А

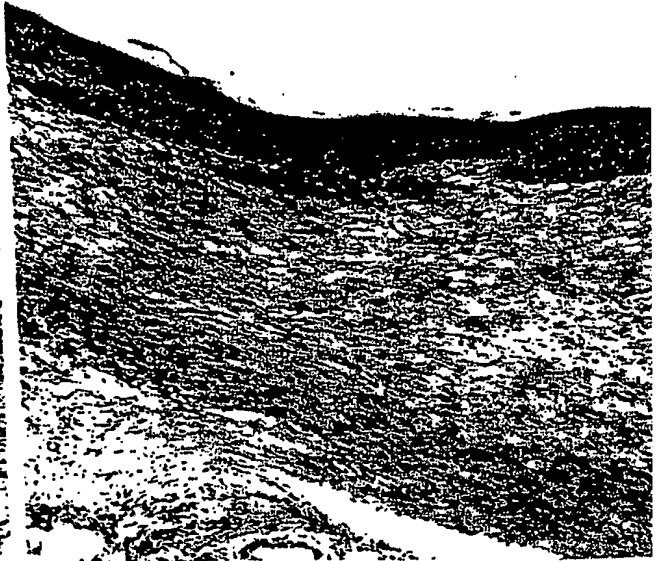


Рис.1 Б

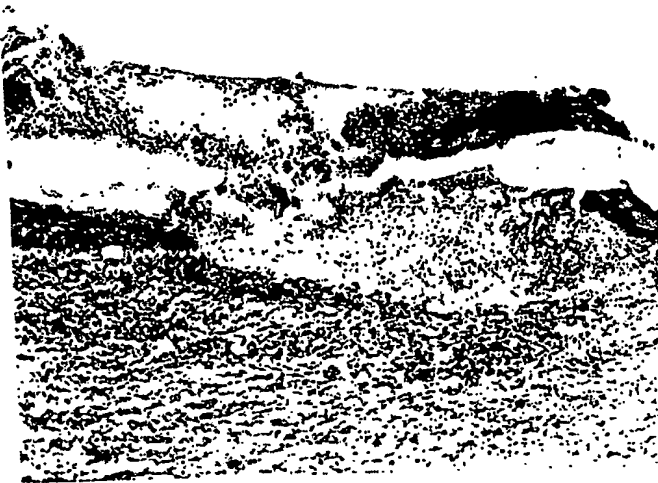


Рис. 1В



Рис. 1Г

ФИГ. 1

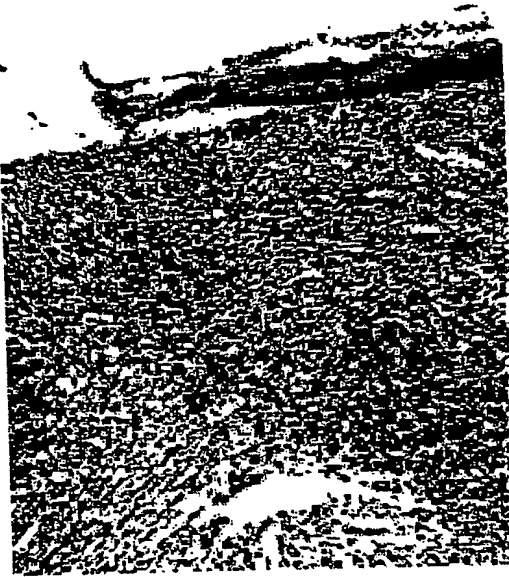


Рис. 2А.



Рис. 2Б.



Рис.2В.

ФИГ. 2



Рис.3А



Рис.3Б



Рис.3В

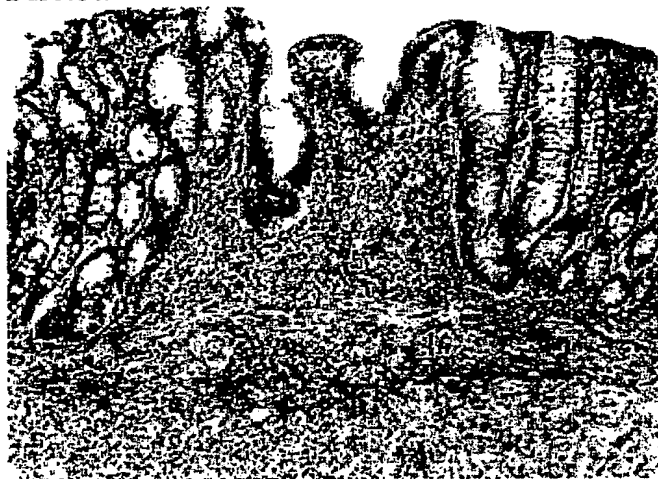


Рис.3Г

Фиг. 3



Рис. 4А.



Рис. 4Б.



Рис. 4В.



Рис. 4Г.

ФИГ. 4



## РЕФЕРАТ

(57) Изобретение относится к новым производным имидазолия и к фармацевтическим композициям, содержащим эти производные в качестве активного ингредиента. Изобретение также касается способа получения группы новых соединений, проявляющих противовоспалительную, ранозаживляющую и репаративную активности, и способов их применения. Изобретение может быть использовано для изготовления разнообразных многокомпонентных и комбинированных лекарственных форм и косметических средств. Технический результат достигается за счет использования в качестве лекарственных препаратов новых производных имидазолдикарбоновой кислоты. Лекарственные препараты не обладают токсическим действием, их синтез прост и доступен. Изобретение относится к медицине, а именно, к фармакологии.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**